UNIVERSITE DE BORDEAUX II
Unités d'Enseignement et de Recherche
des Sciences médicales et pharmaceutiques

Année - 1972 - Thèse N° 255

ÉTUDE ÉLECTROPHYSIOLOGIQUE DES OSMORÉCEPTEURS ET DES CELLULES NEURO-SÉCRÉTRICES DU COMPLEXE SUPRA-OPTIQUE CHEZ LE SINGE ÉVEILLÉ

(Macaca Mulatta)

Thèse pour le Doctorat en Médecine

présentée et soutenue publiquement
le **Mardi 12 Décembre 1972**

Dominique POULAIN
né le 9 Mai 1946 à PARIS (XVII[e])

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. J.M.A. FAURE, Professeur	**Président**
M. R. GRANDPIERRE, Professeur	**Juges**
M. J.D. VINCENT, Agrégé	
M. C. BENSCH, Agrégé	

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547315_0019

UNIVERSITE DE BORDEAUX II
Unités d'Enseignement et de Recherche
des Sciences médicales et pharmaceutiques

Année - 1972 - Thèse N° 255

ÉTUDE ÉLECTROPHYSIOLOGIQUE DES OSMORÉCEPTEURS ET DES CELLULES NEURO-SÉCRÉTRICES DU COMPLEXE SUPRA-OPTIQUE CHEZ LE SINGE ÉVEILLÉ

(Macaca Mulatta)

Thèse pour le Doctorat en Médecine

présentée et soutenue publiquement
le **Mardi 12 Décembre 1972**

Dominique POULAIN

né le 9 Mai 1946 à PARIS (XVIIe)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. J.M.A. FAURE, Professeur	**Président**
M. R. GRANDPIERRE, Professeur	**Juges**
M. J.D. VINCENT, Agrégé	
M. C. BENSCH, Agrégé	

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

"Amère, sombre et sonore citerne,
Sonnant dans l'âme un creux toujours futur!"

Valéry, le Cimetière Marin.

La réalisation de ce travail, entrepris au Laboratoire de Neurophysiologie-Physiopathologie du Professeur FAURE à la Faculté de Médecine (Université de BORDEAUX II), n'a été possible que grâce à l'aide que nous ont apportée ses membres.

- Et d'abord, Melle Elisabeth ARNAULD, Attachée de Recherche à l'I.N.S.E.R.M., qui par ses connaissances sur ces problèmes, et par sa gentillesse, nous a prêté son concours tout au long de cette étude. Qu'elle veuille bien trouver ici l'expression de notre amicale reconnaissance pour tout ce que nous lui devons.

- Nous sommes également redevables à Mr Fl. RODRIGUEZ de la confection des dispositifs expérimentaux, à Melle M.H. ARNAULD, de son assistance au cours de la préparation et du déroulement des interventions, à Mr G. LABAYLE de son aide technique lors des enregistrements, à Mme R. BONHOMME et Melle J. BALABEAU des contrôles histologiques, enfin à Melle A. PRIVAT, de la dactylographie, et à Mr R. MIGUELEZ, des contrôles radiographiques et de l'illustration iconographique de cette thèse.

Que toutes ces personnes, qui ont toujours fait preuve à notre égard de beaucoup de gentillesse, en soient ici remerciées.

- Enfin, nous tenons à exprimer l'amicale gratitude que nous devons au Dr B. DUFY, Chargé de Recherche au C.N.R.S., qui depuis notre arrivée au laboratoire, nous a constamment prodigué ses bienveillants conseils.

Monsieur le Docteur Cl. BENSCH

Maître de Conférence
Agrégé de Physiologie et Exploration Fonctionnelle
Biologiste des Hôpitaux

"Qu'on nous cherche aux confins les
Hommes de grand pouvoir...

Hommes imprévisibles ... Hommes nourris
du vin nouveau et comme percés d'éclai...

Notre Salut est avec eux dans la sagesse et
dans l'intempérance"

Saint John Perse, Vents

Monsieur le Docteur J.D. VINCENT

Maître de Conférence,
Agrégé de Physiologie et Exploration Fonctionnelle
Biologiste des Hôpitaux
P.D. Fellow de l'Université de Californie,LOS ANGELES,U.S.A.

"Comme il est bien, dans la requête au Prince,
d'interposer l'ivoire ou bien le jade

Entre la face suzeraine et la louange courtisane !"

Ce travail que vous nous avez confié, ne saurait être d'ivoire ni de jade, aussi,

"Ainsi convié, serez-vous l'hôte dont il convient de taire le mérite", mais non l'admiration sincère que nous avons pour lui.

D'après Saint-John Perse, Amers.

Monsieur le Professeur R. GRANDPIERRE

Professeur de Physiologie
Directeur de l'U.E.R. de Biologie et Physiopathologie des Facteurs d'Ambiance
Directeur du Laboratoire de Biologie Aéro-Spatiale de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes
Officier de la Légion d'Honneur
Croix du Combattant volontaire de la Résistance
Officier des Palmes Académiques
Officier de la Santé Publique
Chevalier du Mérite Sportif
Médaille d'Honneur de l'Aéronautique
Médaille d'Honneur du Service de Santé Militaire
Médaille d'Honneur du Service de Santé de la Marine

qui a bien voulu accepter de juger ce travail

Nous avons pu apprécier lors de nos premières années à la Faculté, et plus tard, au cours du troisième cycle d'études médicales, votre grand savoir et votre amabilité.

Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueux attachement.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE :

Monsieur le Professeur Jacques M.A. FAURE

Professeur de Mèdecine Expérimentale
et de Physiopathologie
Biologiste des Hôpitaux, Chef de Service
Croix de Guerre 1939-1945
Croix du Combattant Volontaire de la Résistance
Officier des Palmes Académiques
Senior Fellow de l'Institut Neurologique
de MONTREAL (Université MAC GILL).

Depuis plusieurs années que vous nous avez accueilli dans votre laboratoire, vous nous avez constamment manifesté une attention bienveillante, cherchant à nous faire partager votre passion pour la Recherche. Vous n'avez que trop réussi à nous la communiquer, et l'étendue de vos connaissances, la sûreté de votre jugement, et votre extrême gentillesse nous sont et nous seront des guides précieux.

Veuillez trouvez ici l'expression de notre respectueuse admiration et de notre profonde gratitude.

INTRODUCTION

La part liquidienne de l'organisme revêt une place considérable, non seulement sur le plan quantitatif, mais aussi sur le plan fonctionnel, en raison des opérations biochimiques qui s'y déroulent, et de son rôle dans les échanges entre les milieux intérieurs, et avec le milieu extérieur.

Or l'équilibre hydrominéral est régulé de manière extrêmement précise, puisque la pression osmotique est remarquablement stable dans le milieu intérieur (de l'ordre de 308 mosm/l. dans le plasma). Cependant il s'agit d'un équilibre dynamique entre, d'un côté les entrées, de l'autre les sorties d'eau et de substances dissoutes. A cet égard, dans les conditions physiologiques, c'est le volume d'eau qui constitue le facteur le plus mobile.

En effet, la quantité d'eau dans l'organisme est fonction de la prise hydrique lors de la boisson, et

de l'excrétion assurée par la respiration, la sudation, les fécès, et surtout les reins ; ces derniers, grâce à la réabsorption facultative d'eau, contrôlée en particulier par la vasopressine ou hormone antidiurétique (A.D.H.), permettent une modulation trés fine de l'excrétion.

La régulation de l'équilibre hydrominéral se pose donc en termes :

- d'ordre comportemental (soif et comportement de boisson)
- d'ordre endocrinien (libération d'A.D.H.)

Ce double contrôle a pour facteur commun les variations de la pression osmotique, comme l'a montré VERNEY en 1947 : l'injection de solutions salées hypertoniques dans la circulation cérébrale d'un chien, déclenche à la fois la réponse comportementale et la réponse endocrinienne.

L'existence d'un tel stimulus implique celle de récepteurs correspondants, les osmorécepteurs ; VERNEY en a le premier formulé le concept, et a ouvert la voie de leur recherche en les localisant au niveau de l'hypothalamus antérieur.

Cependant, à côté du rôle de ces osmorécepteurs hypothalamiques, de nombreux mécanismes, seulement évoqués ici, interviennent dans le contrôle de l'homéostasie hydrominérale.

D'autres stimuli, en effet, comme l'activité musculaire, les émotions, les modifications volumétriques du milieu intérieur, peuvent déclencher la réponse antidiurétique et la soif, mettant en jeu plusieurs mécanismes centraux ou périphériques.

Des osmorécepteurs ont été localisés dans d'autres territoires centraux : bulbes olfactifs (SUNDSTEN et SAWYER, 1959), tronc cérébral (CLEMENTE, SUTIN et SILVERSTONE, 1957 ; HOLLAND et al., 1959), système limbique, réticulée (SAWYER et GERNANDT, 1956), IIIè ventricule (ANDERSSON et ERIKSSON, 1971 ; OLSSON, 1969, 1970).

Des mécanismes centraux différents sont également impliqués, comme par exemple la régulation du tonus vasomoteur, la régulation respiratoire.

Enfin un autre problème concerne les modalités de l'arrêt du comportement de boisson. En effet, la prise d'eau cesse bien avant que la pression osmotique puisse être revenue à son niveau normal. Ceci suppose donc la mise en jeu de mécanismes anticipatoires faisant probablement intervenir des récepteurs périphériques situés au niveau bucco-pharyngé (LILJESTRAND et ZOTTERMAN, 1954), au niveau gastrique (TOWBIN, 1949 ; PAINTAL, 1954 ; MONTGOMERY et HOLMES, 1955), au niveau du système porte hépatique (HABERICH, 1972). La diurèse observée à la suite d'un comportement de boisson (NICOLAIDIS, 1969), est une illustration de ces mécanismes anticipatoires.

Nous n'aborderons dans cette étude que certains aspects de la régulation hypothalamique de l'équilibre

hydrique, en insistant sur le problème de l'identification des osmorécepteurs hypothalamiques, grâce à l'application, selon une méthode originale, de techniques de stimulations antidromiques post-hypophysaires, chez le singe non anesthésié.

Nous envisagerons, dans une première partie, les données rapportées par les différents auteurs, concernant ces osmorécepteurs.

Dans une seconde partie, nous exposerons les principes et les détails de la méthode utilisée.

Enfin, au cours d'une troisième et dernière partie, nous rapporterons les résultats obtenus, et les discussions qu'ils soulèvent.

I° PARTIE

LES OSMORECEPTEURS HYPOTHALAMIQUES

C'est à VERNEY que l'on doit le concept d'osmorécepteurs centraux, en 1947, il démontra que l'injection de sérum hypertonique dans la carotide entraînait la libération d'A.D.H.

En 1957, JEWELL et VERNEY, par une série d'expériences de perfusions sélectives, utilisant des techniques d'exclusion, de ligature de vaisseaux, d'injections de colorants, limitèrent le territoire sensible à l'hypothalamus antérieur et dorso-latéral, comprenant en particulier le noyau supra-optique (N.S.O.) et sa région.

VERNEY avait fourni ainsi un faisceau d'arguments en faveur de l'existence d'osmorécepteurs à ce niveau.

Restaient :

- à prouver l'existence de ces osmorécepteurs
- à préciser leur localisation
- à déterminer leur nature histo-cytologique
- à démontrer leur spécificité vis-à-vis du stimulus osmotique.

La réponse à l'une de ces questions dépendant étroitement de la solution apportée aux autres, ceci explique la difficulté des recherches et les résultats souvent fragmentaires, parfois divergents, qui ont été obtenus.

Le premier problème est d'ordre topographique : les osmorécepteurs sont-ils localisés au NSO et sa région ?

Certains travaux reposent sur des techniques anatomiques.

Par désafférentations anatomiques, BARD et MACHT, 1958, montraient la nécessité d'un ilôt hypothalamique au maintien de l'équilibre hydrominéral. D'autres auteurs (WOODS et BARD, 1960 ; SUNDSTEN et SAWYER, 1961 ; WOODS, BARD et BLEIR, 1966) ont limité ce territoire au NSO et sa zone périnucléaire.

D'autres travaux reposent sur des techniques électrophysiologiques.

- VON EULER montrait que la région du NSO présentait des variations de potentiel continu en réponse à l'injection de sérum hypertonique.

- Des modifications électroencéphalographiques dans l'hypothalamus antérieur ont été trouvées par GREEN et MORIN, 1953, chez le Cobaye, par NAKAYAMANA, 1955, chez le Lapin éveillé, en réponse à un stimulus osmotique.

- Etudiant les variations du rythme de décharge des potentiels d'action, certains auteurs (CROSS et GREEN, 1959 ; BROOKS et al., 1962 ; JOYNT, 1964) étendent à tout l'hypothalamus antérieur le territoire des cellules osmosensibles.

D'autres travaux le circonscrivent au NSO (SUDA et al., 1963, JOYNT, 1966).

Néanmoins, les travaux des différents auteurs (BROOKS et al., 1962 ; BROOKS et al., 1966 ; KOIZUMI et al., 1964 ; ISHIKAWA, 1966 ; SUDA et al., 1963, CROSS et GREEN, 1959, JOYNT, 1964-1966) s'accordent pour montrer qu'il existe dans la région du NSO des neurones osmosensibles.

Le deuxième problème est d'ordre fonctionnel.

Les travaux que nous venons de résumer concluent à l'existence de neurones osmosensibles. VON EULER en 1953 avait proposé comme définition théorique que seul soit appelé osmorécepteur le neurone qui ne réponde qu'au stimulus osmotique, à l'exclusion de tout autre stimulus, et qui ne soit ni un interneurone, ni un neurone neurosécrétoire.

Les problèmes fonctionnel et cytologique sont donc étroitement liés. Sur le plan fonctionnel, CROSS et GREEN, 1959, JOYNT 1964-1966, ont décrit des neurones sensibles essentiellement au stimulus osmotique, dans le NSO et la zone périnucléaire. A l'inverse, des neurones osmosensibles décrits par BROOKS et al., 1962, sont des neurones de convergence, sensibles à de nombreux stimuli sensoriels.

Ces résultats quelque peu divergents appellent une remarque qui vaut pour tous les neurones hypothalamiques. Il existe une corrélation étroite entre le niveau

de vigilance et l'activité spontanée de la plupart des cellules hypothalamiques, comme l'ont montré les travaux de VINCENT, BENOIT, SCHERRER et FAURE chez le Lapin en 1967, de HAYWARD chez le Singe en 1969. Or la plupart des fonctions homéostasiques mettent en jeu des modifications de la vigilance. Ainsi est posé le problème de savoir, lorsqu'un processus homéostasique s'accompagne d'une variation de l'activité neuronale, si celle-ci dépend directement de ce processus, ou si elle n'est secondairement que la conséquence de la variation de vigilance. Le stimulus osmotique, ainsi que nous l'avons souligné, modifie la vigilance : l'injection de sérum salé hypertonique chez l'animal non anesthésié, provoque comme l'avait signalé VERNEY, non seulement une réponse endocrinienne, mais aussi un éveil intense.

Cependant tous les travaux électrophysiologiques ont été pratiqués chez des animaux anesthésiés, et sans contrôle électroencéphalographique. Il est impossible dans ces circonstances, de savoir si la réponse neuronale dépend du seul stimulus osmotique, ou bien d'une activation générale du cerveau, secondaire à une variation de la vigilance.

Se fondant sur ces remarques, HAYWARD et VINCENT, 1970, ont étudié l'activité unitaire dans l'hypothalamus antérieur et latéral chez le Singe éveillé, et ont décrit deux groupes de cellules osmosensibles.

- Les cellules osmosensibles non spécifiques, situées dans l'hypothalamus antéro-latéral, qui présentent une variation de leur rythme de décharge, soit en accélération, soit en inhibition, en réponse à un stimulus osmotique, mais aussi, et dans le même sens, à de nombreux stimuli sensoriels éveillants. Ces neurones n'obéissent à aucune localisation précise.

- Les cellules osmosensibles dites spécifiques, ne répondent qu'au seul stimulus osmotique, Deux sous-groupes s'y distinguent :

. des cellules à activité biphasique : accélération de la décharge suivie d'une inhibition (1). Elles sont étroitement localisées dans le NSO.

. des cellules à activité monophasique : consistant en une accélération ou en une diminution de leur décharge. Elles sont localisées dans un territoire disposé en couronne autour du NSO.

Les auteurs supposent que les cellules biphasiques sont les cellules neurosécrétrices, tout en posant le problème de la nature de l'inhibition secondaire (inhibition post-synaptique par une collatérale récurrente, ou

(1) - Le terme d'inhibition appliqué ici par les auteurs, ne recouvre ici qu'une donnée phénoménologique, sans préjuger de la nature des mécanismes responsables de cette diminution de l'activité électrique. Tout au long de cet exposé le terme d'inhibition ne sera utilisé que dans cette acception.

bien hyperpolarisation post-tétanique ?). Quant aux cellules monophasiques leur localisation topographique en dehors du NSO proprement dit, et leur caractère fonctionnel spécifique, permettraient de leur attribuer le rôle d'osmorécepteur tel que l'avait défini VON EULER.

Le troisième problème concerne la nature cytologique des osmorécepteurs.

Les différentes études tant histologiques qu'électrophysiologiques ont ainsi permis de rechercher les osmorécepteurs hypothalamiques au niveau et autour du NSO. Or le NSO contient des cellules neurosécrétrices. Doit-on identifier les osmorécepteurs aux cellules neurosécrétrices comme le suggérait JOYNT, 1966 ? Ou bien s'agit-il de neurones différents comme permettraient de le penser les recherches d'HAYWARD et VINCENT ?

En fait le problème est indissociable de celui de l'identification des cellules neurosécrétrices. Il a été démontré que l'élaboration de l'A.D.H. se faisait dans le système supra-optico-hypophysaire dont les cellules d'origine sont dans le NSO. Or selon l'hypothèse de SCHARRER, si les cellules neurosécrétrices sont des cellules glandulaires, ce sont aussi, comme le suggèrent leurs caractères cytologiques, des cellules nerveuses. De nombreux auteurs se sont donc attachés à établir une corrélation entre l'activité endocrinienne et l'activité électrique des cellules du NSO (et aussi du noyau para-ventriculaire, NPV) : CROSS et GREEN, 1959, BROOKS et

al., 1962, SUDA et al., 1963, BROOKS et al., 1966, et plus récemment DYBALL, 1971. Mais étant donné que toutes les cellules du NSO ne sont pas des cellules magno-cellulaires, il n'est pas exclu que l'activité enregistrée ne provienne de neurones non sécrétoires.

Bien que niée par CROSS et GREEN, 1959, c'est à KANDEL 1964, que l'on doit pour la première fois la démonstration de la possibilité d'identifier des cellules neurosécrétrices par stimulation de la post-hypophyse. Appliquée par cet auteur à l'étude chez le poisson rouge des cellules du noyau préoptique (qui se différencie en NSO et NPV dans les espèces supérieures), cette méthode de stimulation antidromique a permis par la suite d'identifier les cellules neurosécrétrices du NSO et du NPV chez les mammifères (YAGI et al., 1966, DYBALL, KOIZUMI et BROOKS, 1970, BARKER et al., 1971 c, DYBALL, 1971) et de confirmer l'hypothèse de SCHARRER selon laquelle les cellules neurosécrétrices ont tous les caractères fonctionnels élémentaires des cellules nerveuses. Certains auteurs (DYBALL,1971, DREIFUSS, KALNIUS, KELLY et RUF, 1971) ont étudié les relations entre l'activité électrique des cellules ainsi identifiées et leur activité glandulaire. D'autres se sont attachés à l'étude de caractères fonctionnels particuliers de ces cellules notamment l'inhibition récurrente (KELLY et DREIFUSS, 1970 ; BARKER, CRAYTON et NICOLL, 1971 a, 1971 c ; DREIFUSS et KELLY, 1971 ; NICOLL et BARKER, 1971 ; NEGORO et HOLLAND, 1972), et également la réponse de ces cellules

lors de divers stimuli centraux, osmotiques ou sensoriels.

Cependant, et sur ce dernier point, il convient de rappeler que toutes ces études ont été effectuées sur des animaux anesthésiés, sans tenir compte donc, du problème du niveau de vigilance. En effet, ces techniques de stimulations post-hypophysaires utilisées chez les mammifères sont basées sur un abord chirurgical direct de la neurohypophyse, soit par voie basse, transpharyngée, soit par voie haute, après avoir découvert l'hypothalamus.

Néanmoins ces travaux ont montré qu'il était possible d'identifier nettement les cellules neurosécrétrices par stimulation antidromique. Cette technique pouvait donc être appliquée pour confirmer l'hypothèse de HAYWARD et VINCENT sur les cellules biphasiques et monophasiques, à condition de l'utiliser chez l'animal non anesthésié.

Cette étude est consacrée aux récepteurs hypothalamiques, et à leur relation avec les neurones neuroendocriniens. Nous nous efforcerons, grâce à l'application de techniques de stimulation post-hypophysaire chez le Singe non anesthésié, d'éclaircir plusieurs points parmi les nombreuses questions qui restent posées. En particulier,

- les neurones biphasiques sont-ils des cellules neurosécrétrices ?

- qu'elle est l'origine de l'inhibition secondaire qu'on y observe ?

- Les cellules monophasiques constituent-elles une population neuronale différente des neurones biphasiques, et peut-on leur attribuer le rôle d'osmorécepteur ?

D'autre part, une telle technique, permettant l'étude chez l'animal éveillé, offre la possibilité d'envisager également la part comportementale de la régulation hydrique, et d'étudier notamment l'intervention du comportement de boisson sur le fonctionnement du système neuro-endocrinien.

II° PARTIE

I

DONNEES MORPHOLOGIQUES

Avant d'aborder la description des dispositifs expérimentaux, il convient de rappeler, pour en expliquer certaines particularités, l'anatomie du système supra-optico-hypophysaire.

L'élaboration de la vasopressine (A.D.H.) s'effectue dans les neurones magnocellulaires hypothalamiques du noyau supra-optique, où elle est stockée et mise dans la circulation à l'extrémité des axones, dans la neurohypophyse. L'appareil supra-optico-hypophysaire comprend donc le N.S.O. , le tractus supra-optico-hypophysaire et la post-hypophyse.

C'est dans le noyau supra-optique que se trouvent les cellules neuro-sécrétrices élaborant la (ou les) substances neuro-sécrétées.

Ce noyau dérive d'une formation impaire et médiane qu'on trouve chez les téléostéens, qui se différencie ultérieurement en une structure paire, le noyau préoptique, situé de part et d'autre du IIIè ventricule. Le noyau préoptique donne, à partir des amniotes, le N.S.O. et le noyau paraventriculaire (N.P.V.).

Situé dans l'hypothalamus antérieur, le N.S.O. s'étend de chaque côté le long de la bandelette optique. En avant il projette latéralement au niveau du chiasma optique, et il atteint en arrière la partie antérieure des nucléi tuberis latérales. Sa longueur totale varie entre 5 et 8 mm chez l'homme.

Chez le Singe et l'Homme, on lui décrit trois parties, dorso-latérale (la plus antérieure et la plus importante), dorso-médiane et ventro-médiane, ces deux dernières étant réunies entre elles par une bande cellulaire de même nature. Entre N.S.O. et N.P.V. sont disséminés des groupes de cellules analogues connus sous le nom de noyaux supra-optiques accessoires.

Sur le plan cytologique, ce qui caractérise le N.S.O. (et aussi le N.P.V.) c'est la présence de grandes cellules neuro-sécrétrices. Ces cellules magnocellulaires ont un gros noyau excentré avec un seul nucléole. Elles possèdent par ailleurs tous les caractères d'une cellule nerveuse (en particulier neuro-fibrilles [redacted] ; Corps de Nissl ici disposés en périphérie du corps cellulaire). Elles diffèrent des cellules nerveuses "banales" par la présence de granulations de diamètre supérieur à 1000 Å , les vésicules neuro-sécrétrices, et par la terminaison de leur axone amyélinique, qui ne fait pas de synapse avec un autre neurone, mais aboutit à un capillaire dans lequel l'A.D.H. est déversé. Ces Neurones possèdent d'ailleurs tous les caractères cytologiques des cellules glandulaires ; la présence des granulations neurosécrétrices

peut être révélées par les colorations à la chromalun hématoxyline et à la paraldehyde fuschine (cellules dites Gomori positive).

A côté de ces cellules, existent dans le N.S.O. et surtout dans sa zone périphérique des cellules nerveuses plus petites, ne présentant pas les affinités tinctoriales des cellules magnocellulaires (elles sont gomori-négatives), (HARRIS, 1955). Il va de soi que le seul contrôle histologique après enregistrement unitaire au niveau du N.S.O., ne permet pas de savoir si l'activité enregistrée est celle des cellules magnocellulaires ou celle des autres cellules.

Le tractus S.O. hypophysaire a son origine dans le N.S.O. (et aussi le N.P.V.), les fibres qui le constituent aboutissent à la neurohypophyse.

Les axones d'origine supraoptique vont directement à l'infundibulum dans lequel ils pénètrent par les parties antérieures et latérales. A ce niveau, ils donnent des collatérales, dont la destination, sans doute assez proche, n'est pas encore bien précisée, (CHRIST, 1966). Les fibres descendent le long de la tige hypophysaire et atteignent la neurohypophyse proprement dite. En cet endroit, elles se divisent en de nombreux faisceaux, qui se subdivisent à leur tour en faisceaux plus petits. Les terminaisons de ces fibres ne se font pas toutes au même niveau, ainsi que l'ont montré les techniques de dégénérescence rétrograde.

- Un certain nombre d'axones se terminent dans l'infundibulum, dans les ilôts de Greving.

- La majeure partie atteint la neurohypophyse et aboutit à des fins capillaires et des ilôts de Greving.

- Certaines fibres ont des terminaisons libres dans le tissu neuro-hypophysaire.

La neurohypophyse proprement dite, à côté de ces fibres, présente une innervation assez pauvre. Il s'agit de fibres nerveuses sympathiques accompagnant l'artère postéro-médiane hypophysaire dans la post-hypophyse, et de fibres hypothalamo-hypophysaires venant d'autres structures hypothalamiques que le N.S.O. et le N.P.V. (essentiellement du noyau arqué et aussi du noyau ventro-médian chez l'Homme).

Chez le Macaca Mulatta, la neuro-hypophyse est bien développée, de forme grossièrement arrondie, peu inclinée sur l'axe horizontal. Cependant les apophyses clinoïdes postérieures la coiffent à sa partie supérieure. Si l'on veut introduire par voie haute une électrode dans la post-hypophyse, il faut éviter les apophyses et incliner l'électrode en bas et en arrière de manière à pénétrer au centre du tissu neuro-hypophysaire.

II

LA STIMULATION ANTIDROMIQUE DES CELLULES NEUROSECRETRICES

PRINCIPE ET APPLICATION

La stimulation de l'axone d'une cellule nerveuse peut, dans des conditions définies, déclencher un potentiel d'action dans le périkaryon. Dans la mesure où l'on peut aisément atteindre l'axone, cette méthode de stimulation antidromique, couplée à l'enregistrement de l'activité unitaire par micro-électrode, donne la possibilité de repérer -in vivo- le neurone d'origine. Le résultat est le même en stimulant un faisceau homogène d'axones issus de cellules plus ou moins disséminées parmi d'autres neurones : les périkaryons d'origine répondront au stimulus électrique; d'autres cellules peuvent aussi réagir, mais ceci fait intervenir des phénomènes synaptiques, qui modifient les caractères de la réponse.

Cette méthode a été appliquée à l'étude de nombreuses structures nerveuses : les motoneurones spinaux (FUORTES, FRANCK et BECKER, 1957), les cellules pyramidales de BETZ (PHILIPS, 1959), les cellules pyramidales de

l'hippocampe (SPENCER et KANDEL, 1961), les cellules mitrales, du bulbe oflactif (GREEN et al., 1962). Au niveau du N.S.O. (et aussi du N.P.V.), les travaux de KANDEL, suivis de ceux d'autres auteurs (NOVIN et al., 1969 ; YAMASHITA et al., 1970 ; YAMASHITA et KOIZUMI, 1970-1971 ; KOIZUMI et YAMASHITA, 1971), ont précisé les critères caractérisant les potentiels antidromiques des cellules neuro-sécrétrices :

1. - La latence : pour un neurone donné, à une intensité de stimulation électrique définie, elle est constante. Elle traduit le temps de passage du point de stimulation au périkaryon, et dépend, bien entendu, de la longueur de l'axone entre l'électrode stimulatrice et la microélectrode d'enregistrement. Evaluée par la distance séparant les deux électrodes, cette longueur, et la latence, permettent d'évaluer approximativement la vitesse de conduction le long de l'axone, de l'ordre de 0,5 à 1,5 m/sec.

2. - En stimulant brièvement à haute fréquence, les cellules neuro-sécrétrices sont capables de répondre à la même fréquence, et ce jusqu'à une fréquence d'au moins 100 / sec.

3. - Forme : le potentiel antidromique a une forme biphasique, (positif-négatif). Il présente sur sa pente ascendante une déflexion A - B, qu'il est possible de dissocier en ses deux composantes en diminuant l'intervalle entre deux chocs successifs. Au maximum, on peut obtenir une séparation complète des deux spikes A et B.

Il semblerait que le spike A, dont la latence est strictement constante, corresponde à un spike du segment initial (spike I.S.), tandis que le spike B correspondrait à un spike somato-dendritique (S.D.).

4. - La durée du potentiel antidromique est d'environ 1 à 3 ms. Il présente une période réfractaire absolue de l'ordre de 2,5 ms. Soulignons que forme, durée, et période réfractaire, sont les mêmes pour les potentiels d'action spontanés.

5. - Phénomène de collision : dans un neurone donné, tout potentiel d'action spontané est suivi d'une période réfractaire absolue au cours de laquelle un stimulus électrique supra-liminaire ne peut donc être efficace. L'absence de réponse évoquée due à la survenue d'un spike spontané est connue sous le nom de collision. Le test de collision donne ainsi la certitude que axone stimulé et neurone enregistré font partie de la même cellule, et élimine ainsi tout phénomène synaptique, qui ne serait pas reproductible aussi régulièrement.

Dans le cas particulier de la stimulation antidromique, il faut tenir compte, en outre, du temps de passage le long de l'axone, aussi bien dans le sens antidromique, qu'orthodromique, temps qui est mesuré par la latence. Un phénomène de collision se produit donc chaque fois que le choc électrique est séparé d'un potentiel spontané, par un délai inférieur à la latence augmentée de la période réfractaire absolue.

En conclusion, lors de la stimulation antidromique dans la neuro-hypophyse, la latence constante, un test de collision positif, et la possibilité de suivre de hautes fréquences de stimuli, nous permettent d'affirmer que la cellule enregistrée dans le N.S.O. (ou dans le N.P.V.) est bien une cellule neurosécrétrice, ces caractères ne pouvant se retrouver lors de stimulations transynaptiques.

Compte tenu de l'hypothèse de VON EULER, et des travaux de HAYWARD et VINCENT, 1970, cette méthode est apparue indispensable pour pouvoir identifier directement les cellules neuro-sécrétrices, et de manière indirecte par conséquent, les cellules voisines non sécrétoires, parmi lesquelles nous recherchons les osmorécepteurs. L'implantation chronique de l'électrode stimulatrice donne en outre la possibilité d'expérimenter chez l'animal non anesthésié, et d'apprécier ainsi le niveau de vigilance. Du fait de la configuration de la post-hypophyse et de la selle turcique du Macaca Mulatta, le moyen le plus pratique consiste en une approche frontale. Le chapitre suivant expose en détail les techniques opératoires suivies pour préparer les animaux.

III

PREPARATION D'UN ANIMAL CHRONIQUE

MATERIEL ET METHODES

L'animal qui a été préalablement conditionné pendant plusieurs semaines pour s'adapter à une chaise de contention pour Primates, doit subir plusieurs interventions pour mettre en place tous les dispositifs expérimentaux. L'anesthésie est pratiquée au pentobarbital (Nembutal) à raison de 40 mg/ Kg.

A. - La première intervention consiste à fixer sur le crâne quatre vis en acier inoxydable qui, en dépassant de 1,5 cm environ à travers l'os et le scalp, serviront à immobiliser la tête de l'animal en cours d'expérimentation (EVARTS, 1968).

B. - La deuxième intervention permet d'installer, 4 ou 5 jours plus tard,

- un puits de descente de microélectrode,
- l'électrode de stimulation neuro-hypophysaire,
- des électrodes d'enregistrement de divers paramètres (Electroencéphalogramme, électromyogramme oculaire externe).

1. - Le puits de descente de micro-électrode.

Description :

Il comporte une partie fixe solidarisée au crâne,

-une partie mobile qui n'est utilisée qu'en cours d'expérience (TRENT H., WELLS Jr., MECHANICAL DEVELOPMENTS CO.).

La partie fixe est un cylindre en acier inoxydable, creux, de 11 mm de diamètre interne à la base, recevant dans sa portion supérieure :

- la partie mobile, qui est un cylindre plein, percé d'un canal vertical permettant le passage de la microélectrode à travers un tube guide qui peut pénétrer dans le cerveau.

Il existe plusieurs modèles selon la position du canal, qui peut être axial ou excentré respectivement de 0,25 ; 0,5 ; 0,75 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 mm. En faisant tourner la partie mobile dans la partie fixe dans le sens horaire par exemple, ces divers modèles donnent la possibilité d'explorer un territoire de 5 mm de diamètre. Une vis permet de bloquer la partie mobile dans la position voulue.

En cours d'expérience, on utilise une microélectrode en platine iridié (platine 70 %, iridium 30 %), de 1 à 3 /u à la pointe, de 200 /u de section, préparée selon la technique de WOLBARSHT, et d'une impédance d'environ 1,5/2 MΩ. Cette micro-électrode est reliée par un "émetteur-follower" (transistor à effet de champ) à l'étage de préamplification.

La descente s'effectue avec un micro-descendeur (TRENT H.; WELLS JR ; MECHANICAL DEVELOPMENTS CO.).

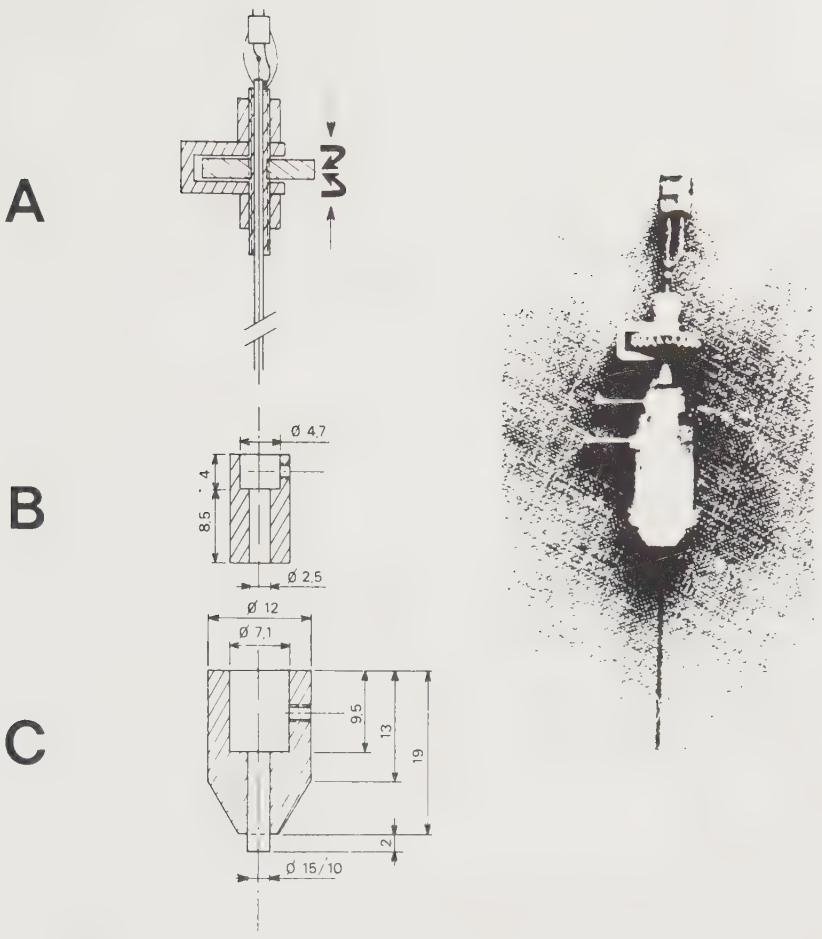
Mise en place.

L'animal anesthésié est fixé sur l'appareil stéréotaxique (Précision Cinématographique). Un orifice est pratiqué à travers la boîte crânienne, centré sur les coordonnées A 16, L. 2,5 mm (Atlas de SNIDER et LEE),sans ouvrir la dure-mère. Le cylindre creux est rendu solidaire du crâne par du ciment de dentiste. A l'intérieur du cylindre, dans la portion inférieure duquel ne pénètre pas la partie mobile, de la cire de Horsley est versée, qui sert à assurer l'étanchéité. Une fois en place, le cylindre est fermé par son bouchon.

2. - L'électrode stimulatrice.

Description :

Il s'agit d'une électrode concentrique bipolaire en acier inoxydable, composée d'un fil d'acier émaillé de 50/100è de section, disposé et collé par de l'araldite à l'intérieur d'un tube creux en acier inoxydable de 7/10è de diamètre intérieur. Le fil d'acier sort de 1,5 mm et son extrêmité est dénudée et taillée en pointe crayon sur 0,3 mm, à la meule douce en diamant. A l'autre extrêmité, le fil d'un côté, le tube de l'autre, sont reliés à une fiche à deux plots (Souriau et Cie), collée au tube. Celui-ci est isolé extérieurement par du vernis cellulosique



A. Cremaillere semi micrometrique

B. Support mobile

C. Puits de descente

Figure 1.

Schéma du dispositif de maintien de l'électrode de stimulation

gras à l'alcool (Weiss et Co), sauf à son extrêmité inférieure où il est dénudé sur tout le pourtour de la tranche de section. L'impédance de l'ensemble est d'environ 30.000 ohms.

Un dispositif permet de fixer cette électrode au crâne et de la descendre avec précision dans la post-hypophyse. Il comporte également une partie fixe, ou puits de descente, et une partie mobile (figure 1).

- Le puits est un cylindre creux en matière plastique (Altuglass), dans lequel on peut bloquer :

- la partie mobile qui comporte deux éléments :

. une crémaillère semi-micrométrique (TRENT H. ; WELLS JR. ; MECHANICAL DEVELOPMENTS CO), à l'intérieur de laquelle l'électrode stimulatrice est introduite, et collée à sa partie supérieure. Cette crémaillère autorise un déplacement de l'électrode le long de son axe de 5 mm environ,

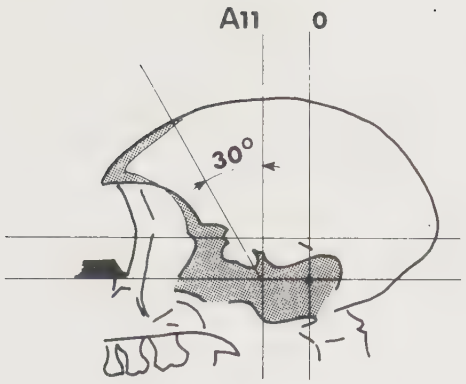
. elle est montée sur un support, constitué par un cylindre d'Altuglass, creusé d'un canal axial dans lequel peut coulisser l'électrode, et qui s'adapte dans la partie fixe.

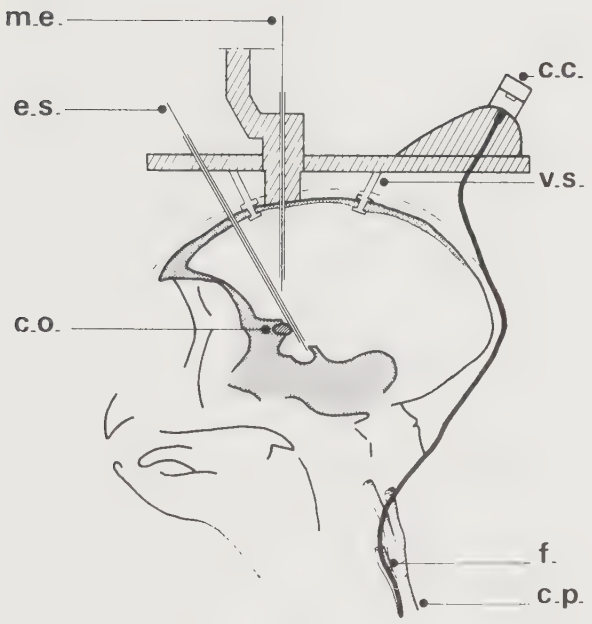
Lorsque l'électrode de stimulation a été mise en place, et que le puits a été solidarisé au crâne, ce dispositif donne la possibilité, en cas de défectuosité de l'électrode, de la changer avec beaucoup de facilité.

Mise en place.

Comme nous l'avons déjà indiqué, c'est l'approche

A





B

Figure 2.

A : coordonnées et position de l'électrode de stimulation

B : Schéma des dispositifs expérimentaux

(m.e. : microélectrode ; e.s. : électrode de stimulation ;
c.o. : chiasma optique ; c.c. : cathéter carotidien ;
v.s. : vis de soutien de la plateforme ; f. : artère faciale ;
c.p. : carotide primitive).

D'après VINCENT et al., Brain Research, 1972, 45 , 278-281.

frontale qui est la plus commode pour introduire l'électrode stimulatrice dans la post-hypophyse, (figure 2).

L'électrode et son dispositif complet (partie mobile bloquée dans la partie fixe en prévoyant une marge de déplacement) est installée sur l'appareil stéréotaxique. On utilise à cet effet un appareillage de descente à crémaillère monté sur un rapporteur d'angle, le tout pouvant se déplacer dans les trois plans (Précision Cinématographique).

Avant l'intervention, les coordonnées sont étudiées de telle sorte que l'axe de l'électrode soit dans le plan sagittal, incliné de 30 ° par rapport à la verticale. Le zéro dans le sens antéro-postérieur correspond à la position de l'appareillage de descente quand l'axe de l'électrode croise l'intersection du plan A 11 et du plan horizontal passant par les conduits auditifs externes.

Au cours de l'intervention, l'appareillage de descente est placé dans la position zéro, le dispositif de l'électrode étant relevé en bloc le plus haut possible pour ne pas toucher la boîte crânienne. On introduit dans le puits de descente de microélectrode une pièce mobile avec son tube guide, lequel traverse la dure-mère et est enfoncé de 25 mm au-dessous d'elle. Ceci permet lors d'un premier cliché radiographique, de corriger éventuellement les données de l'Atlas de SNIDER et LEE, en fonction de la morphologie de l'animal opéré (FINDLAY et HAYWARD, 1969), et de repérer la verticale sur le cliché.

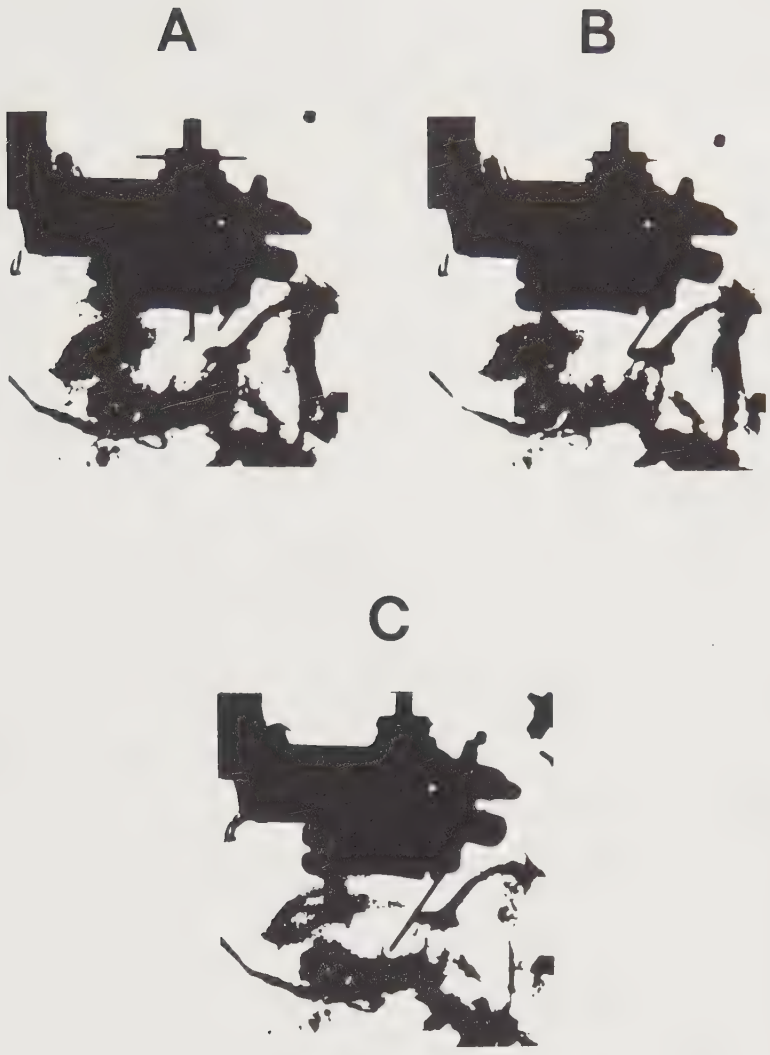


Figure 3.

Radiographies illustrant les différents stades de la mise en place de l'électrode stimulatrice.

En effet, la mise en place de l'électrode stimulatrice se fait sous contrôle radiographique répété (PHILIPS PRACTIX, placé à trois mètres et centré sur la selle turcique).

L'électrode est alors descendue presque au contact de l'os, et par un premier cliché, on vérifie,

- que l'axe de l'électrode fait bien un angle de 30° avec la verticale,
- que cet axe passe par la post-hypophyse sans buter sur les apophyses clinoïdes postérieures.

Une correction de trajet peut être apportée, si c'est nécessaire, en déplaçant l'appareillage de descente d'avant en arrière, ou vice-versa.

Lorsque la position est correcte, un orifice est percé à travers l'os, en regard de la pointe, sans léser la dure-mère sous laquelle se situe le sinus longitudinal supérieur. L'éledtrode est alors descendue avec précaution. On perçoit deux résistances, lors de la traversée de la dure-mère et d'un renforcement de la partie antérieure de la faux. L'électrode pouvant être déviée par ces formations, plusieurs contrôles radiographiques sont indispensables. En cas d'erreur de trajet, il faut alors relever l'électrode, déplacer l'appareillage et recommencer les mêmes opérations, (figure 3).

La phase finale de la mise en place de l'électrode est assez délicate. Si besoin est, on peut faire jouer la pièce mobile dans le puits du dispositif. Sinon,

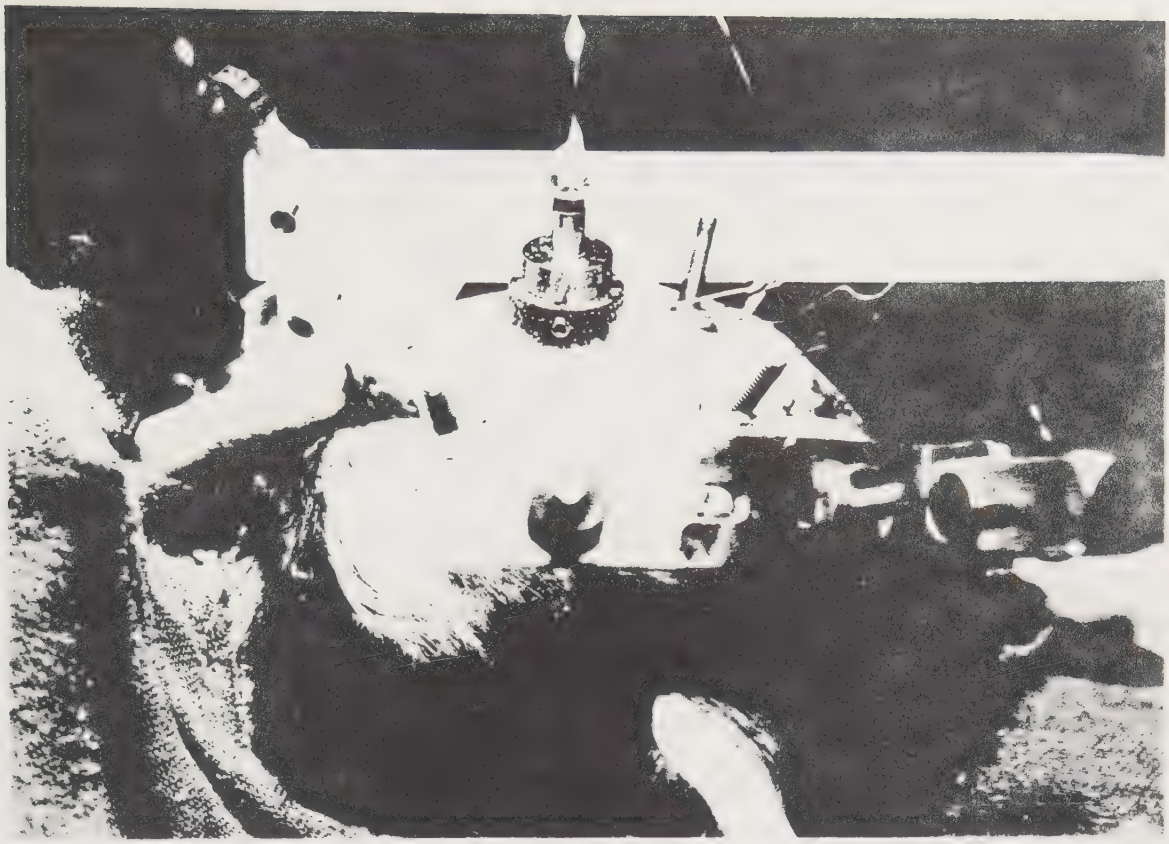


Figure 4.

Photographie prise à la fin de l'installation de l'électrode stimulatrice. On remarque au premier plan le dispositif d'EVARTS maintenant la tête en position stéréotaxique, puis les vis de soutien de la plateforme, les électrodes corticales, le puits de la micro-électrode, et le puits de l'électrode stimulatrice encore fixé à l'appareillage de descente.

l'utilisation de la crémaillère semi-micrométrique permet de varier de quelques millimètres. Lorsque la pointe de l'électrode est à 1 ou 1,5 mm du fond de la selle turcique, sensiblement au centre de la post-hypophyse, on fait reposer le puits sur la dure-mère, et on le fixe par du ciment de dentiste (figure 4). Quand la prise est solide, l'appareillage de descente est retiré, laissant en place l'électrode maintenue par son dispositif. L'absence de court circuit est alors vérifiée en faisant passer un faible courant. Ce n'est qu'en cas de défectuosité que l'électrode peut être enlevée, et remplacée par une autre dans son puits.

3. - Autres dispositifs expérimentaux.

La dernière phase de l'intervention consiste à placer des électrodes corticales, temporales et surtout occipitales, au nombre de cinq, en argent chloruré, extrémité en boule, en position épidurale, et isolées sur tout leur trajet, sauf à la pointe par du vernis cellulosique gras.

Une électrode extra-oculaire, en nickel chrome, isolée par du vernis cellulosique gras sauf à la pointe, est placée à l'angle externe de chaque oeil dans le tissu péri-orbitaire, et passe sous la peau jusqu'à l'occiput. Elle sert à apprécier les mouvements oculaires.

Toutes ces électrodes sont reliées à une fiche multiprise à dix plots (Souriau et Co).

Enfin on installe une plateforme selon la technique de HAYWARD et BARKER, 1969, modifiée. Il s'agit d'une plaque d'Altuglass de 6 x 8 cm, et 3 mm d'épaisseur, percée de deux trous pour laisser passer les puits des deux électrodes, fixée au crâne par deux vis en acier inoxydable de chaque côté, et consolidée par du ciment de dentiste. La fiche multiprise, ainsi que les deux puits, y sont également cimentés. Un tube de plastique de 2 cm de diamètre et 4,5 cm de long est aussi ainsi fixé autour du dispositif de l'électrode stimulatrice. Fermé par un bouchon vissé, il protège l'électrode, tout en laissant un accès facile pour le branchement.

C. - Une troisième intervention a lieu 5 - 8 jours plus tard pour cathétériser la veine jugulaire droite et la carotide primitive gauche. Le cathéter carotidien doit servir à l'injection de solutions dans la circulation cérébrale ; celui de la jugulaire à des injections par voie systémique, ou bien des prélèvements sanguins.

On utilise à cet effet des cathéters siliconés (cathéter Silastic, 0,20 in ID x 0,47 OD, Medical Grade Tubing, DOW CORNING Co). Le plus fin est introduit dans la carotide primitive par l'artère faciale, peu après son origine, et descendu de 4 cm vers le coeur. Cet abord permet de ne pas interrompre la circulation carotidienne.

Le cathéter le plus épais passe dans la jugulaire, en arrière du muscle sterno-cleido-mastoïdien, et

descend de 7 - 8 cm jusqu'à l'oreillette. En amont, la jugulaire est ligaturée.

Les deux cathéters cheminent sous les muscles et la peau et ressortent en arrière au niveau de l'occiput. Ils se terminent par un dispositif constitué par une aiguille hypodermique dont le biseau a été scié et limé. Fermant cette aiguille, un bouchon, composé d'un embout de seringue, en acier inoxydable, fermé par de la toile anglaise collée, assure l'étanchéité, et permet facilement les injections de solutions en piquant une aiguille à travers la toile. Les deux aiguilles hypodermiques sont cimentées à la plateforme, en arrière (figures 2 B et7). Ces deux cathéters sont remplis de sérum physiologique, et leur perméabilité est entretenue en injectant 2 cc de sérum physiologique, une fois par jour.

IV.

L'EXPERIMENTATION

MATERIEL ET METHODES.

Huit Singes ont été opérés selon les techniques que nous venons de décrire. Après récupération, soit dans les 5 à 8 jours qui suivent la dernière intervention, nous avons procédé à l'enregistrement de l'activité unitaire des neurones hypothalamiques.

Pour ce faire, les animaux, assis dans leur chaise de contention pour Primates, sont placés dans une cage de Faraday, à laquelle ils sont accoutumés. Celle-ci est insonorisée, maintenue à la température constante de 22° ± 1° C. L'animal a été au préalable conditionné pour boire à l'aide d'un tube situé en face de la bouche. Une bouteille d'eau le remplit à travers une valve solenoïde, dont l'ouverture et la fermeture peuvent être commandées à distance. Avant tout enregistrement, le Singe est privé d'eau pendant huit heures, et sa tête est solidement immobilisée par le dispositif d'EVARTS, de manière à éviter les artéfacts dûs aux mouvements. Les fils et tubes de branchement sont suffisamment longs pour que tous les

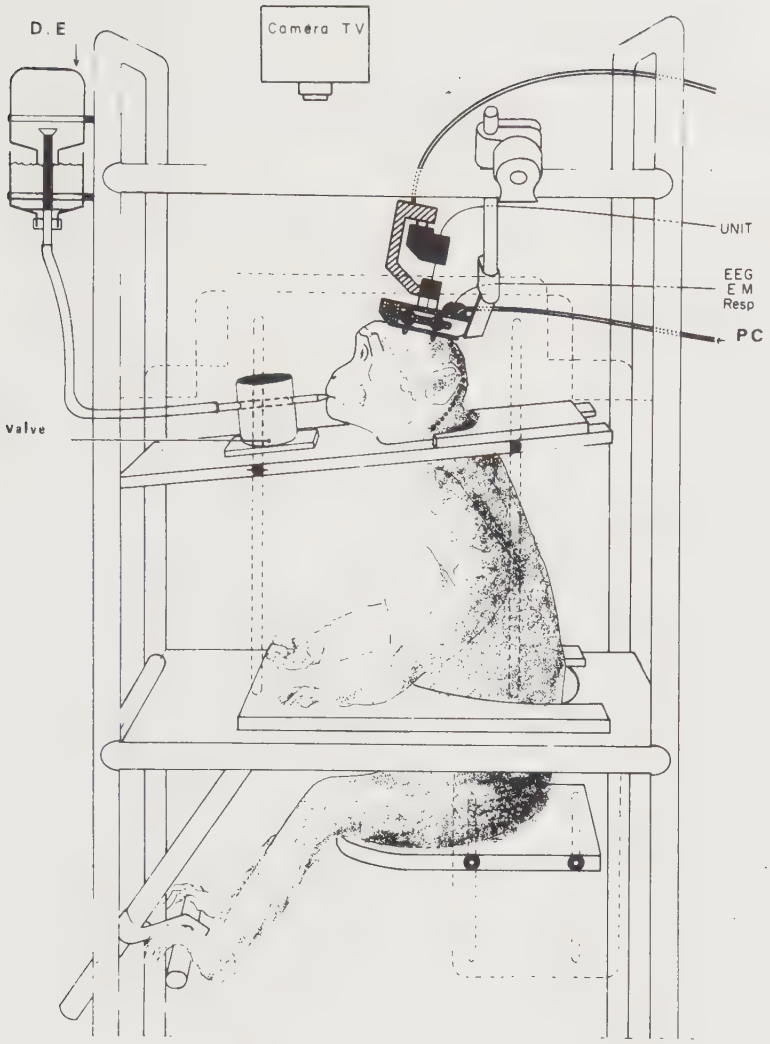


Figure 5.

Schéma de l'animal dans sa chaise de contention au cours de L'enregistrement.La tête est fixée par le dispositif d'EVARTS. (Unit:micro-électrode et son micro-descendeur;E.M.:électromyogramme extra-oculaire;P.C.:prolongateur du cathéter carotidien;D.E.:distributeur d'eau).

D'après VINCENT et al.,Brain Research,1972,44,371-384.

appareils soient à l'extérieur de la cage. Une installation de télévision en circuit fermé permet de surveiller l'animal en permanence, et de contrôler sa vigilance (figure 5).

La microélectrode est mise dans son puits de descente, avec son micro-descendeur hydraulique dont le fonctionnement est assuré par un piston à distance (TRENT H.; WELLS Jr., MECHANICAL DEVELOPMENTS CO.). Par l'intermédiaire de l'émetteur Follower, elle est reliée à un amplificateur différentiel (PAR mod. CRA) sur lequel sont branchés, d'une part un haut-parleur pour contrôle auditif des spikes, d'autre part un oscillographe cathodique (OCT 749 R, CRC) pour contrôle visuel. A la sortie de ce dernier sont disposés un enregistreur magnétique et un trigger. Le magnétophone (REVOX A 77) sert à conserver la trace sur l'une de ses deux pistes pour traitement ultérieur. Le trigger, mis au point au laboratoire, permet d'obtenir sur un enregistreur polygraphique (Polygraph ECEM, type P 6) chacun des spikes grâce à un univibrateur, et une courbe-enveloppe du nombre de spikes par seconde grâce à un intégrateur-moyenneur (RACIA), incorporés dans le circuit. Le schéma de montage des dispositifs expérimentaux est donné dans la figure 6.

Trois des électrodes corticales, ainsi qu'une des électrodes extra-oculaires, sont branchées à l'inscripteur polygraphique, de même qu'une thermistance, placée dans une narine pour la durée de l'expérience, pour

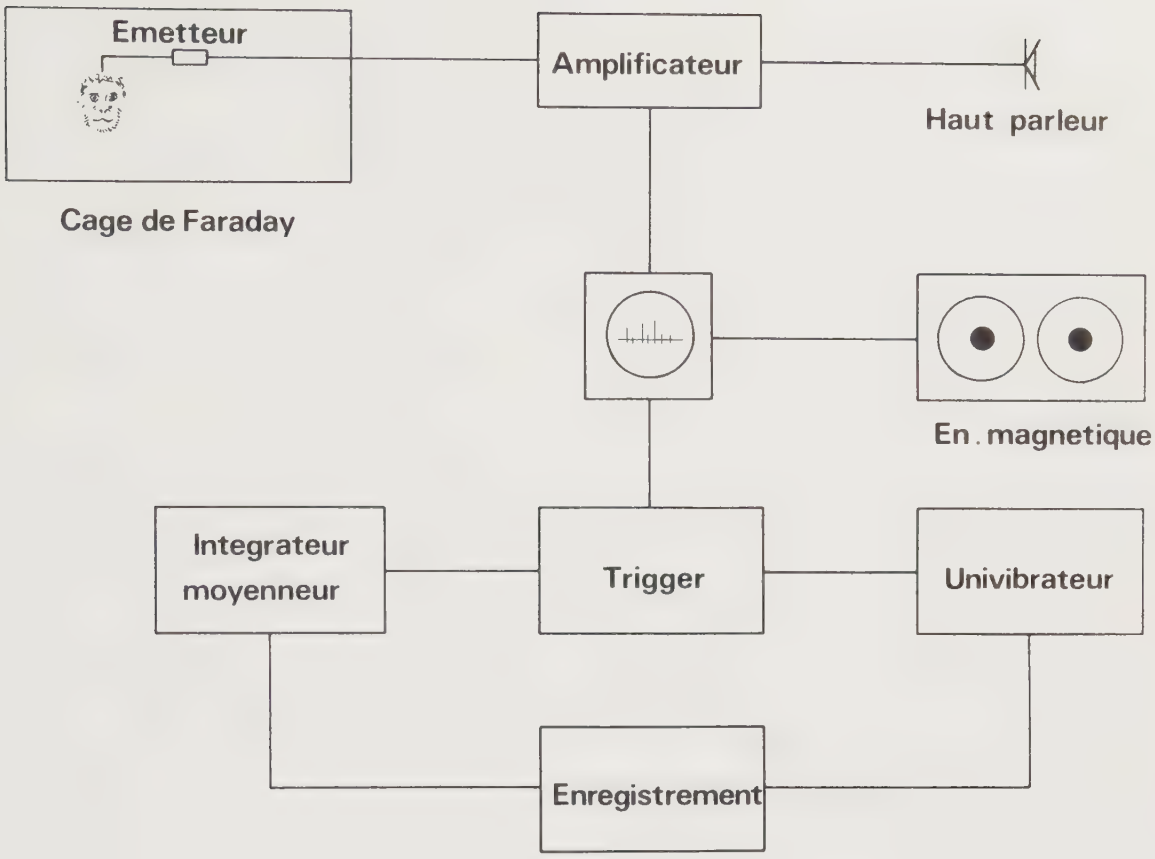


Figure 6.

Schéma de montage pour l'enregistrement de l'activité unitaire.

enregistrer la respiration. Enfin, un toppeur est connecté à une dernière plume pour noter tous les évènements provoqués ou fortuits.

En dernier lieu, deux tubes de plastique rigides, remplis de sérum physiologique, sont fixés sur les aiguilles hypodermiques qui terminent les cathéters carotidien et jugulaire, pour pouvoir effectuer des injections à distance (figure 7).

La microélectrode est descendue dans l'hypothalamus, selon les coordonnées de l'Atlas de SNIDER et LEE, éventuellement corrigées par les données de nos clichés radiographiques. Dès qu'une cellule présentant une activité stable est enregistrée, sa sensibilité à divers stimuli éveillants non nocifs (visuels, auditifs, somesthésiques), et au stimulus osmotique (solution de chlorure de sodium à 2,7 % soit 0,45 M à raison de 1 ml injecté en 5 sec.), est testée. Lorsqu'un neurone ne voit son activité modifiée qu'en réponse à un stimulus osmotique, nous pratiquons une stimulation antidromique (choc d'une durée de 0,5 ms, de 2 à 20 volts, - en général 6 volts, à une fréquence de 1/sec.). Sur les cellules qui réagissent, nous étudions la latence, la possibilité de suivre de brèves salves de haute fréquence (100/sec.), la survenue du phénomène de collision. Pour chacun de nos animaux, nous avons ainsi exploré un champ cylindrique de 5 mm de diamètre, et de 5 mm environ de hauteur centré sur le N.S.O.

En fin d'expériences sur un même animal, la

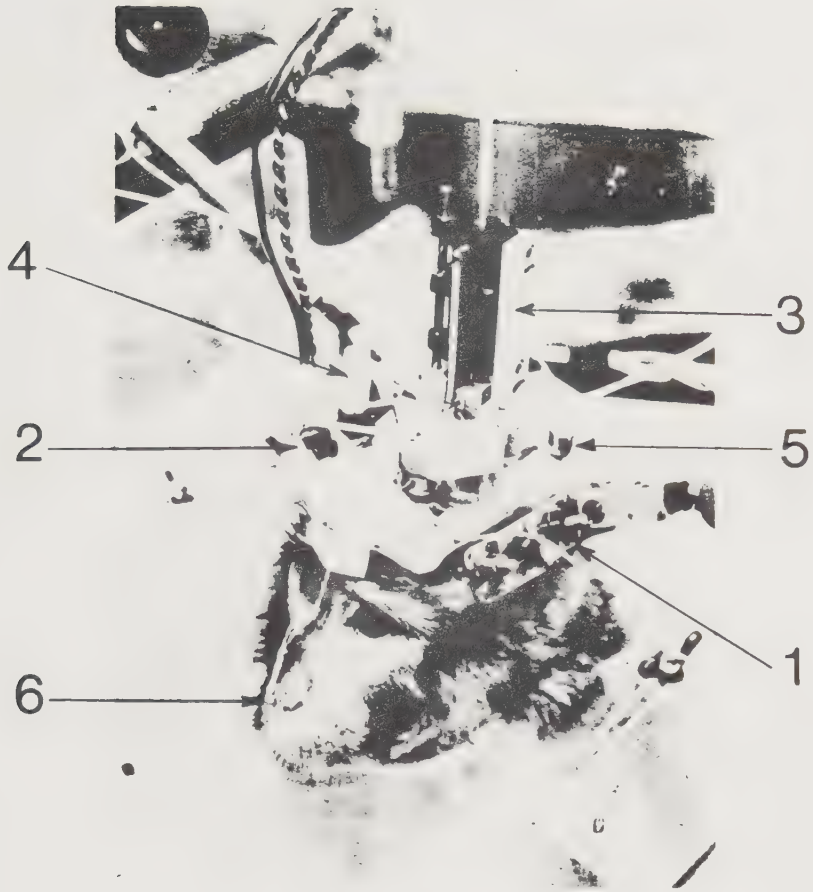


Figure 7.

L'animal en cours d'enregistrement.

1.:Dispositif d'EVARTS immobilisant la tête;-2.:électrode stimulatrice dans son tube de protection.-3:micro-descendeur.-4 :émetteur follower. -5 :cathéter carotidien.-6 :thermistance pour enregistrement de la respiration.

On remarque les câbles et tubes de prolongement permettant d'enregistrer ou d'intervenir à distance.

localisation de la pointe de la micro-électrode a été contrôlée selon la technique de CROSS et GREEN, 1959 : après anesthésie, nous avons pratiqué une série de lésions électrolytiques repérées stéréotaxiquement, avec une électrode en acier. Puis nous avons perfusé le cerveau par la carotide primitive avec une solution isotonique contenant 10 % de formol, et 2 % de ferrocyanure de K^+ [redacted]. Après inclusion à la paraffine, des coupes sériées de 12 µ, ont été colorées selon la méthode de KLUVER et BARRERA. La position des lésions électrolytiques permet ainsi le repérage précis des zones explorées.

III° PARTIE

RESULTATS ET DISCUSSION

Un total de 152 neurones hypothalamiques a été enregistré, chez le Singe éveillé, en relaxation, ou en sommeil. 130 de ces cellules ont vu leur activité modifiée en réponse à l'injection intra-carotidienne de sérum hypertonique. Parmi ces cellules osmosensibles, 47 présentaient un pattern de décharge, en activation ou en inhibition, parallèle lors de la stimulation osmotique à celui observé lors de stimuli éveillants divers (figure 8) ; 85 neurones au contraire, insensibles aux variations de la vigilance, étaient spécifiquement osmosensibles.

- Nous avons observé un pattern biphasique en réponse au stimulus osmotique pour 35 cellules (type I), toutes localisées au N.S.O. (figure 9). La stimulation antidromique a permis de montrer que 25 d'entre elles étaient neuro-sécrétrices, étant donné la latence stable pour chacune d'elles (de l'ordre de 9 à 18 ms selon le cas), la possibilité de suivre des trains brefs de haute

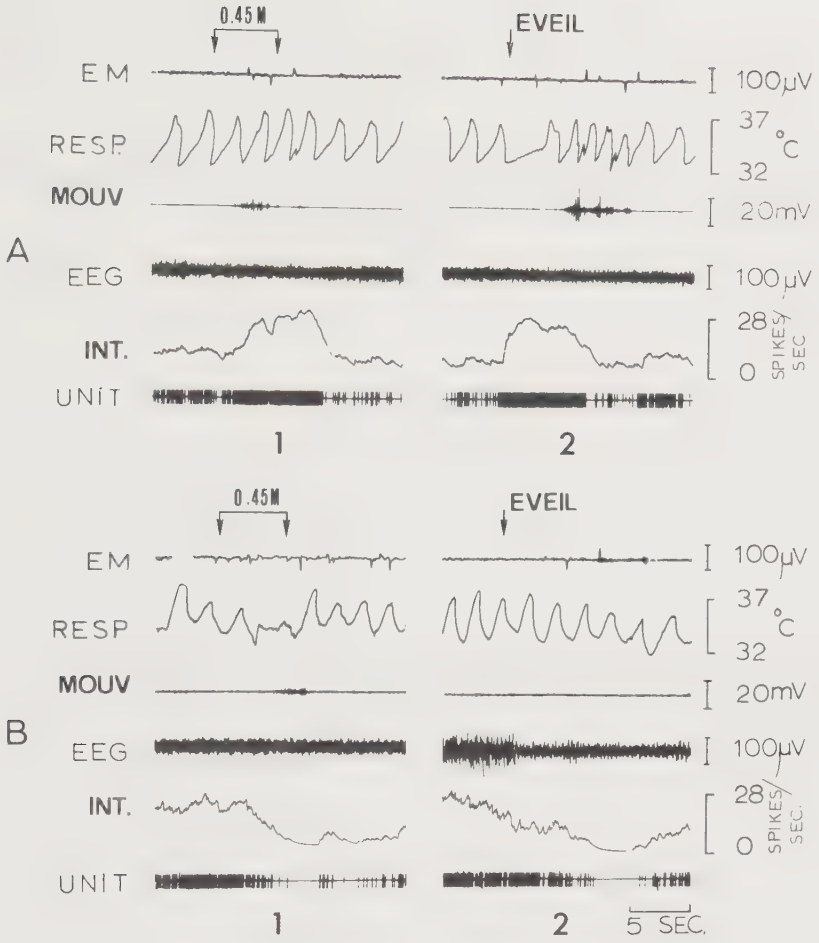


Figure 8.

Neurones osmosensibles non spécifiques.

A :activation par les solutions hypertoniques (1) ou l'éveil (2)

B :inhibition par les solutions hypertoniques (1) ou l'éveil (2)

(E.M.:électromyogramme extra-oculaire;Mouv.:électromyogramme cervical;INT:intégration des spikes).

D'après HAYWARD et VINCENT,J.Physiol.(London),1970,210,947-972.

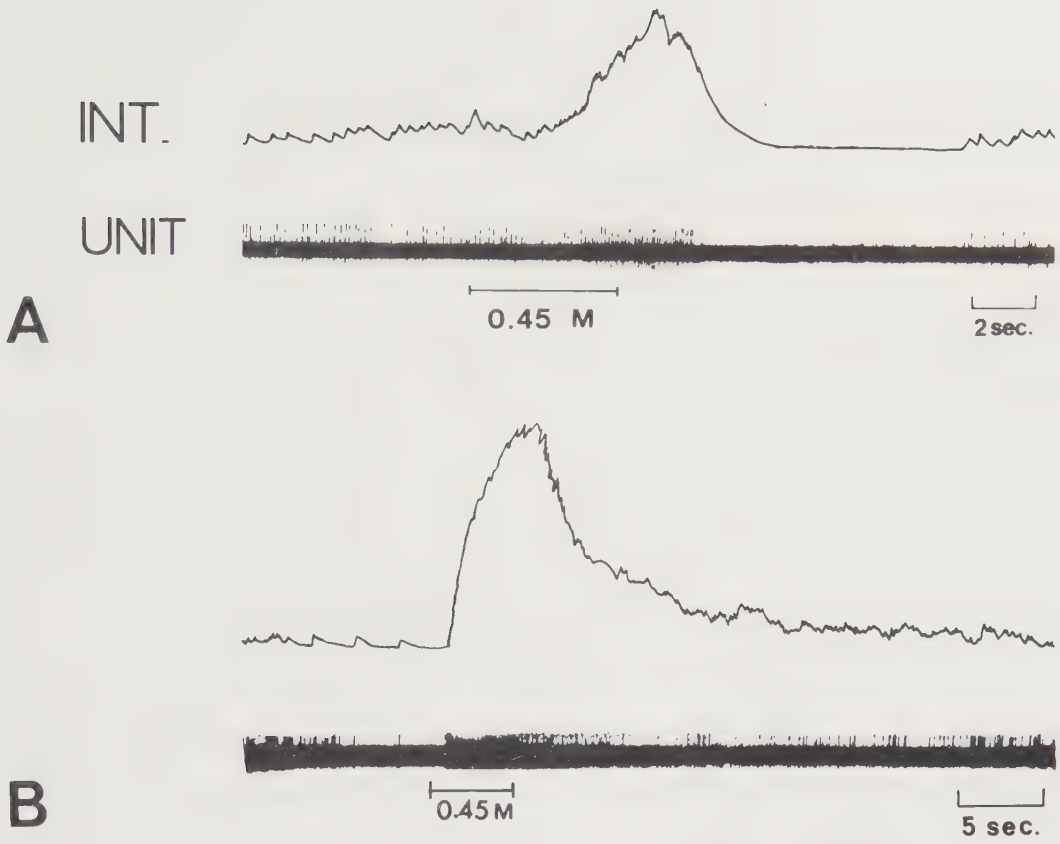


Figure 9.

Neurones osmosensibles spécifiques:réponse à l'injection de sérum salé hypertonique (0,45 M).

A :type I:réponse biphasique:cellule neurosécrétrice.

B :type II:réponse monophasique (en activation ici):osmorécepteur.

(INT:intégration des spikes;Unit:spikes)

fréquence, la forme et la durée des spikes A B, et surtout les phénomènes de collision observés avec les potentiels orthodromiques (figures 10 et 12 A). Nous avons éliminé les autres cellules, qui ne présentaient pas tous ces caractères, comme non sécrétrices.

Il est à noter que l'application d'un choc antidromique est suivi (figure 12) d'une longue phase d'inhibition (50 à 110 ms), alors que la période réfractaire absolue mesurée par des chocs rapprochés, n'a jamais excédé 5 ms.

- Les 50 autres cellules spécifiques présentaient un pattern de décharge monophasique (type II), à la suite du stimulus osmotique, soit en activation (30), soit en inhibition (20) (figure 9). Tous ces neurones sont situés dans la zone périnucléaire du N.S.O. Aucun d'entre-eux n'a pu être activé par stimulation antidromique post-hypophysaire.

Nous devons souligner, comme l'avait noté VERNEY en 1947 et HAYWARD et VINCENT en 1970, que l'injection de sérum hypertonique par voie carotidienne entraîne chaque fois un éveil, avec ouverture des paupières, mouvements de mâchonnement, de succion, accélération du rythme respiratoire, quelque soit le niveau de vigilance au moment du test. Trois des Singes ont eu la possibilité alors de boire, grâce à l'ouverture de la valve du distributeur d'eau, et il s'est ensuivi un comportement de boisson. Chez ces animaux, les 8 neurones de type I

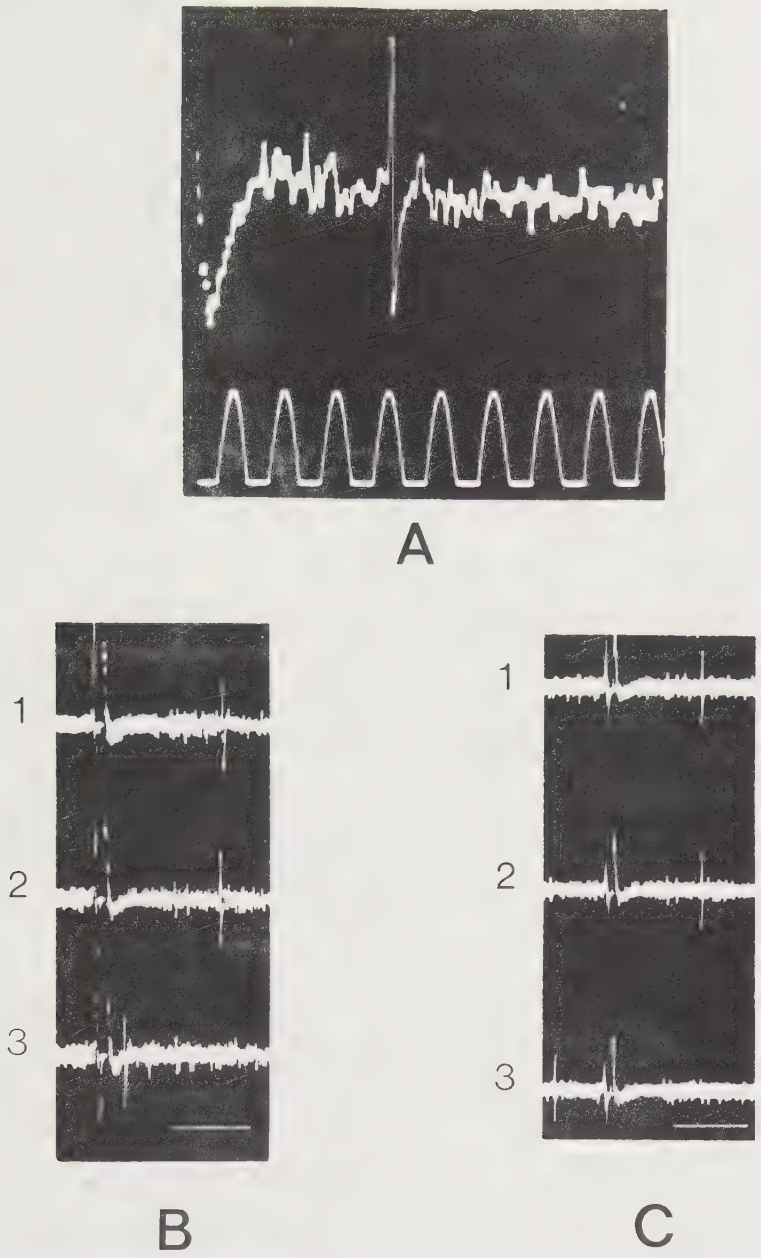


Figure 10.

Stimulation antidromique des cellules neuro-sécrétrices.

A : potentiel antidromique : noter la déflection sur la branche ascendante de la partie positive ; il en existe une autre sur la partie négative. (échelle de temps 2 ms).
B et C : test de collision : noter la latence constante du potentiel antidromique (1 - 2). En 3 abolition de la réponse anti-dromique dûe à un potentiel orthodromique survenant après le stimulus (B), ou avant le stimulus (C), dans un délai inférieur à la latence (échelle 10 ms).

D'après VINCENT et al., Brain Research, 1972, 45, 278-281.
et Brain Research, 1972, 44, 371-384.

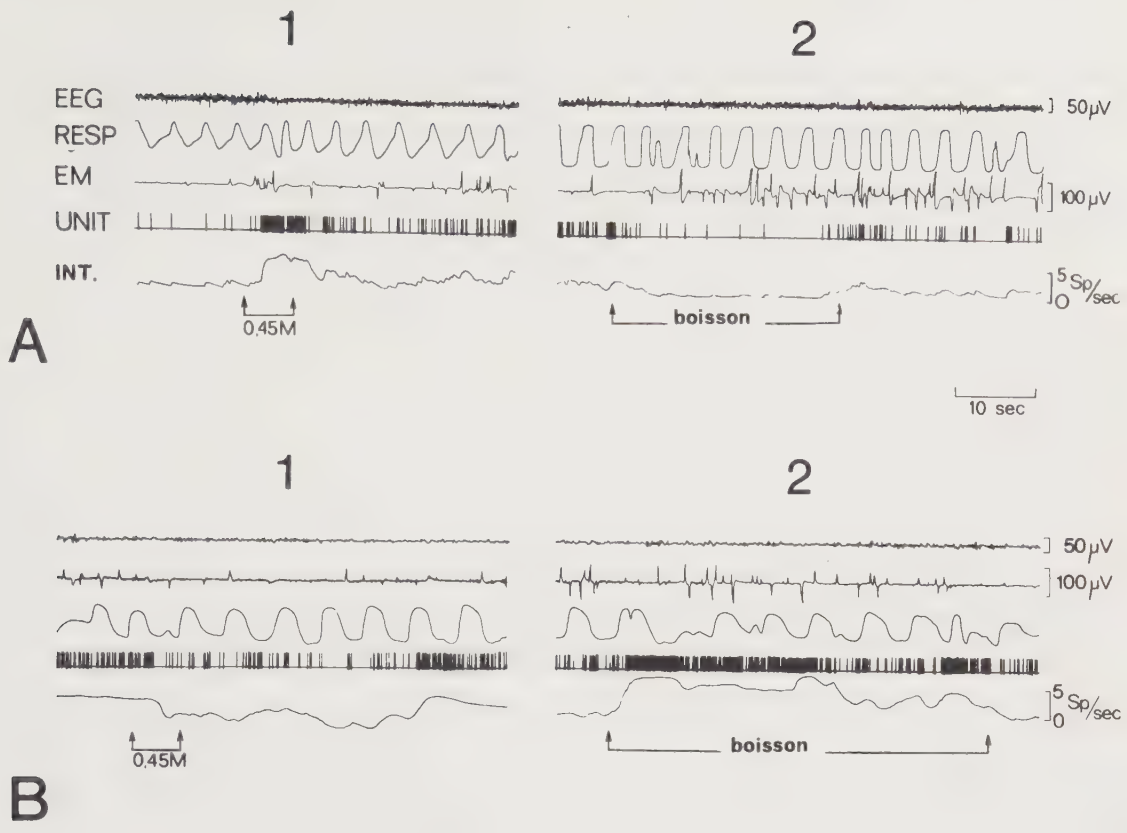


Figure 11

Neurones de type II (Osmorécepteurs)

A :réponse monophasique en activation lors du stimulus osmotique(1), en inhibition lors du comportement de boisson (2).

B :réponse monophasique en inhibition lors du stimulus osmotique, en activation lors du comportement de boisson.

D'après VINCENT et al.,Brain Research,1972,44,371-384.

enregistrés ont présenté alors une inhibition de leur activité, 5 à 20 sec. après le début du comportement et les 11 neurones de type II activateurs, ainsi que les 2 neurones de type II inhibiteurs enregistrés, ont vu leur activité modifiée en sens inverse de leur réponse au stimulus osmotique (figure 11).

*

* *

Des résultats que nous venons d'exposer, plusieurs conclusions peuvent être tirées.

Comme l'avait montré HAYWARD et VINCENT, 1970, il existe donc un grand nombre de neurones osmosensibles qui se classent en deux groupes (figure 13) :

- des cellules non spécifiquement osmosensibles, réparties dans l'hypothalamus antéro-latéral,
- des neurones osmosensibles spécifiques, localisés au N.S.O. et sa région, parmi lesquels on peut distinguer :
  - . des neurones à activité biphasique (type I)
  - . des neurones à activité monophasique (type II)

L'utilisation de la technique de stimulation antidromique chez le Singe non anesthésié, permet de

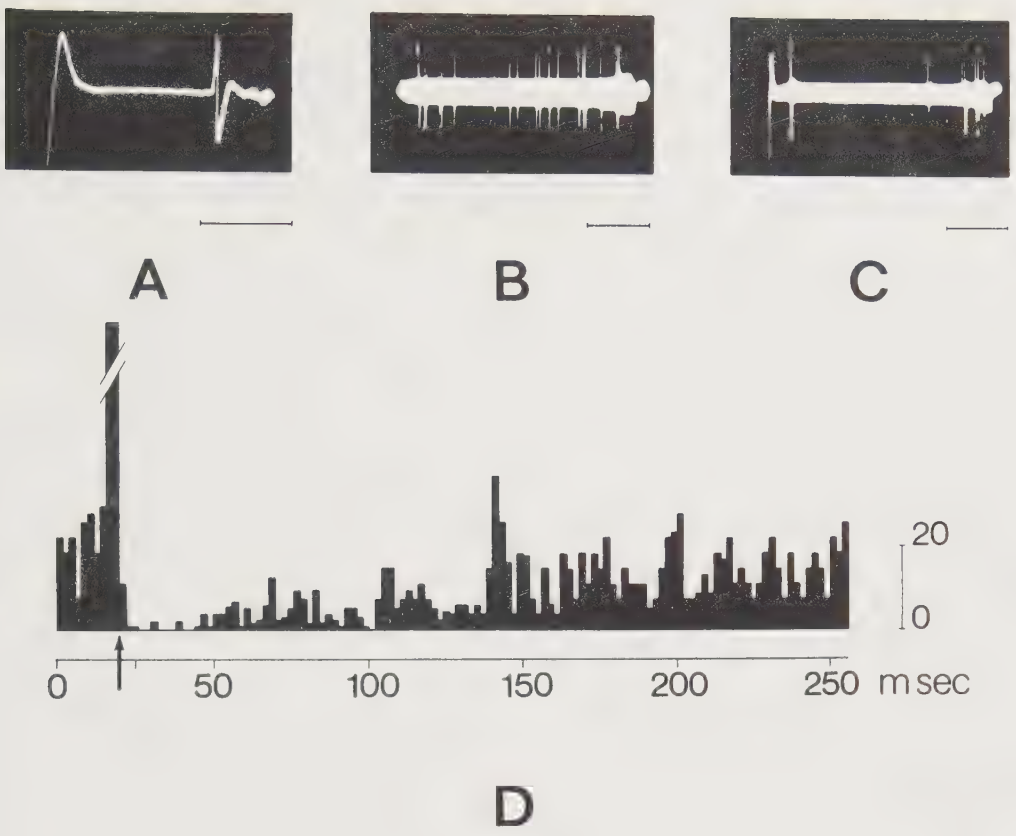


Figure 12

Cellules neurosécrétoires (type I)

A : superposition de dix balayages d'oscilloscope déclenchés par le stimulus post-hypophysaire montrant la constance remarquable du potentiel antidromique (échelle de temps 10 ms).

B : superposition de dix balayages pris au hasard en l'absence de stimulus électrique ou osmotique, montrant la répartition aléatoire de l'activité spontanée du neurone (échelle 50 ms).

C : superposition de dix balayages déclenchés par le stimulus post-hypophysaire montrant la phase d'inhibition prolongée suivant le potentiel antidromique (échelle 50 ms).

D : histogramme de fréquence après stimulation post-hypophysaire (temps 0) montrant l'inhibition prolongée suivant le potentiel antidromique (flèche). - D'après 500 traces.

confirmer l'hypothèse que ces auteurs avaient avancée :

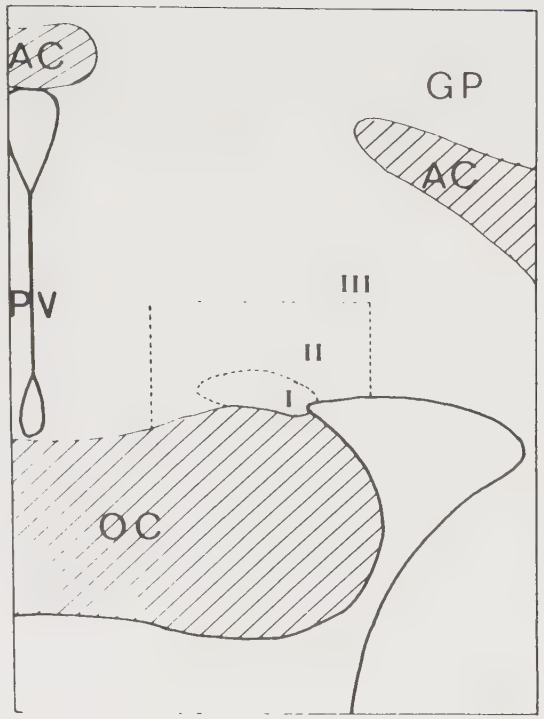
- Les cellules biphasiques sont effectivement des neurones neuro-sécrétoires. Il semble que l'on puisse considérer comme caractère électrophysiologique spécifique, l'activité biphasique de ces cellules enregistrées dans le N.S.O., après un stimulus hyper-osmotique intra-carotidien, chez le Singe tout au moins.

- Les neurones monophasiques ne font pas partie de la même population que les cellules neuro-sécrétrices, puisque jamais il n'a été possible d'obtenir un potentiel antidromique stable par stimulation hypophysaire. Etant donné le caractère spécifique de leur réponse et leur localisation anatomique dans la zone périnucléaire, il semble donc qu'on puisse leur attribuer raisonnablement le rôle d'osmorécepteurs de VERNEY tels que les avait définis VON EULER. L'existence d'une ou plusieurs synapses entre ces cellules et les neurones neurosécrétoires paraît confirmée par les travaux pharmacologiques de différents auteurs (BRIDGES et THORN, 1970 ; THORN, 1971 ; BARKER et al., 1971 a, 1971 b, 1971 d ; DREIFUSS et KELLY, 1972 b). Nous retiendrons plus particulièrement le rôle de l'acétylcholine dans la libération de l'A.D.H., connu depuis PICKFORD, 1939, et largement corroboré par les études en injections locales ou iontophorétiques. L'existence de deux types de sites d'action de l'acétylcholine sur les cellules neurosécrétrices supra-optiques montrée par BARKER et al. 1971 d, est à rapprocher de celle que

confirmer l'hypothèse que ces auteurs avaient avancée :

- Les cellules biphasiques sont effectivement des neurones neuro-sécrétoires. Il semble que l'on puisse considérer comme caractère électrophysiologique spécifique, l'activité biphasique de ces cellules enregistrées dans le N.S.O., après un stimulus hyper-osmotique intra-carotidien, chez le Singe tout au moins.

- Les neurones monophasiques ne font pas partie de la même population que les cellules neuro-sécrétrices, puisque jamais il n'a été possible d'obtenir un potentiel antidromique stable par stimulation hypophysaire. Etant donné le caractère spécifique de leur réponse et leur localisation anatomique dans la zone périnucléaire, il semble donc qu'on puisse leur attribuer raisonnablement le rôle d'osmorécepteurs de VERNEY tels que les avait définis VON EULER. L'existence d'une ou plusieurs synapses entre ces cellules et les neurones neurosécrétoires paraît confirmée par les travaux pharmacologiques de différents auteurs (BRIDGES et THORN, 1970 ; THORN, 1971 ; BARKER et al., 1971 a, 1971 b, 1971 d ; DREIFUSS et KELLY, 1972 b). Nous retiendrons plus particulièrement le rôle de l'acétylcholine dans la libération de l'A.D.H., connu depuis PICKFORD, 1939, et largement corroboré par les études en injections locales ou iontophorétiques. L'existence de deux types de sites d'action de l'acétylcholine sur les cellules neurosécrétrices supra-optiques montrée par BARKER et al. 1971 d, est à rapprocher de celle que



I NSO *specifiques biphasiques* : neurosecretrices

II ZPN *specifiques monophasiques* : osmorecepteurs { excitateurs / inhibiteurs

III *non specifiques*

Figure 13.

Localisation des neurones hypothalamiques osmosensibles.

AC. : commissure antérieure ; OC. : chiasma optique ; GP. : globus pallidus ; PV. : noyau paraventriculaire ; NSO. : noyau supra-optique ; ZPN. : zone péri-nucléaire. D'après VINCENT et al., Brain Research, 1972, 44, 371-384.

nous avons soulignée, de deux types de cellules osmo-réceptrices (excitatrices ou inhibitrices).

Un problème particulier concerne l'activité biphasique des neurones neuro-sécrétoires. L'inhibition secondaire est-elle due à une hyper-polarisation post-tétanique, à une inhibition présynaptique, ou à un potentiel post-synaptique inhibiteur, et dans ces deux derniers cas, quelle serait la voie nerveuse responsable ?

L'observation d'un phénomène d'inhibition après stimulation antidromique devrait permettre une approche de la question. En effet, nous avons signalé qu'après un choc antidromique suivi d'un potentiel antidromique, se produisait une inhibition de longue durée (50 à 110 ms). Ceci a été également rapporté et étudié par d'autres auteurs (KANDEL, 1964 , dans le noyau préoptique du poisson rouge ; BARKER et al., 1971 c, dans le N.S.O. du Chat ; KOIZUMI et YAMASHITA, 1972, dans le N.S.O. et N.P.V. du Chat et du Chien ; DREIFUSS et KELLY, 1972 a, dans le N.S.O. du Rat ; NEGORO et HOLLAND, 1972, dans le N.P.V. du Rat). Tous ces travaux permettent d'exprimer quelques remarques :

1. - L'hyperpolarisation post-tétanique paraît pouvoir être éliminée. En effet, bien que l'inhibition soit trés longue, la période réfractaire mesurée par des chocs répétifis ne dépasse pas 5 à 10 ms. D'autre

part des chocs infraliminaires, ne produisant donc pas de potentiel antidromique, sont capables de provoquer cette inhibition.

2. - L'inhibition présynaptique, en l'absence d'arguments favorables, ne semble pas pouvoir être retenue. Au contraire, KANDEL, 1964, dans le noyau préoptique du poisson rouge, KOIZUMI et YAMASHITA, 1972, chez le Chien, ont mis en évidence par enregistrement intra-cellulaire un potentiel post-synaptique inhibiteur de longue durée consécutif au potentiel antidromique. Dans la mesure où ces constatations peuvent être généralisées, l'hypothèse d'une inhibition post-synaptique serait la plus plausible.

3. - Tous ces auteurs ont également montré que la durée de l'inhibition était quasiment fonction linéaire de l'intensité du stimulus électrique. Ceci est à rapprocher de l'observation par NEGORO et HOLLAND, 1972, d'une proportionnalité entre la durée de l'inhibition et la fréquence d'un train de stimulus prolongé, ou son intensité. De plus, lors d'une telle stimulation à haute fréquence, se produit une disparition rapide de la composante B des potentiels antidromiques, d'autant plus nette que la fréquence ou l'intensité est élevée. Cet aspect cumulatif de l'inhibition, qui fait penser à des phénomènes biochimiques, permet de supposer avec de fortes présomptions que l'origine de l'inhibition après

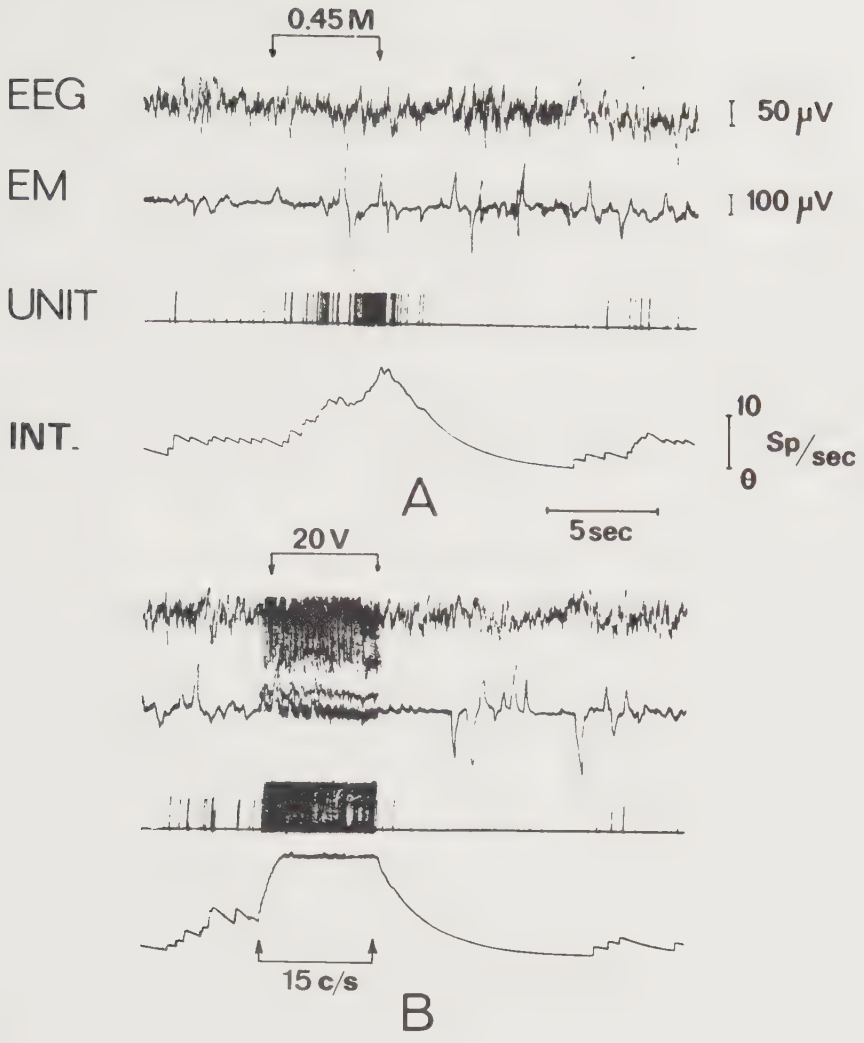


Figure 14.

Cellules neuro-sécrétrices (type I)

A : réponse biphasique à un stimulus osmotique (0,45 M)

B : réponse lors de la stimulation antidromique prolongée (fréquence 15 c./sec., intensité 20 V., pendant 5 sec.).

Noter l'analogie de l'inhibition secondaire et de l'inhibition après stimulation antidromique.

(E.M. : électromyogramme extra-oculaire ; INT. : intégration des spikes.)

stimulation antidromique, est synaptique. Il paraît probable que l'inhibition secondaire observée dans les cellules biphasiques après un stimulus osmotique, relève du même mécanisme : en effet, en stimulant antidromiquement de manière répétitive (train de chocs à une fréquence de 15 c/sec. pendant 5 sec., à une amplitude de 20 V.), il est possible de reproduire une inhibition similaire à l'inhibition secondaire (figure 14).

4. - Etant donné que l'influx nerveux lors de stimulation antidromique passe par les axones, si inhibition synaptique il y a, le plus plausible est d'admettre que l'influx inhibiteur est acheminé par les axones stimulés, et ce par une collatérale récurrente. On connaît en effet le mécanisme de l'inhibition récurrente des motoneurones spinaux (ECCLES et al., 1954), et le phénomène observé pour les cellules neurosécrétrices lui ressemble fort bien. D'autre part, on sait aussi (CAJAL, 1911 ; CHRIST, 1966, chez l'Homme) que des collatérales partent des axones neuro-sécréteurs au niveau de l'infundibulum, mais leur destination précise n'est pas connue.

5. - Dans cette hypothèse, se pose alors la question de savoir si entre la branche récurrente et le périkaryon existent un ou plusieurs interneurones, et quels sont les médiateurs. NICOLL et BARKER, 1971 , ont montré que l'acétylcholine, la noradrénaline, la glycine

et probablement l'acide gamma-amino-butyrique, n'influençaient en rien la durée de l'inhibition après stimulation antidromique. Par contre, l'application iontophorétique d'A.D.H. sur les cellules neuro-sécrétrices entraîne une inhibition, ce qui laisserait supposer une action directe de la branche récurrente sur le corps cellulaire. Cependant, la possibilité d'inter-neurone n'est pas à rejeter (KANDEL, 1964).

Dans la mesure où l'on peut rapprocher l'inhibition secondaire des cellules biphasiques, et l'inhibition consécutive à la stimulation antidromique, on pourrait ainsi concevoir un modèle de feed-back court, modulant de manière trés fine la réponse endocrinienne dans la régulation de l'homéostasie hydrominérale. Mais, comme nous venons de le voir, bien des incertitudes persistent quant à la réalité de collatérales récurrentes, à la possibilité d'inter-neurones, et au mécanisme intime de leur fonctionnement.

Nous terminerons cet exposé en signalant le rôle du comportement de boisson dans l'activité du système supra-optico-hypophysaire. Nous avons fait part de l'inhibition de l'activité spontanée des cellules neuro-sécrétrices 5 à 20 sec. après le début de ce comportement. Ceci s'accorde avec la notion de mécanismes anticipatoires dont nous avons déjà parlé, et donne un support électrophysiologique aux constatations de diurèse précoce au cours de la boisson rapportées

par NICOLAÏDIS, 1969.

Le fait que les osmorécepteurs aient aussi leur activité modifiée en sens inverse de leur réponse au stimulus osmotique, donne à penser que les afférences de ces mécanismes anticipatoires aboutissent à ces osmorécepteurs, et non directement sur les cellules neurosécrétrices.

Nous voudrions conclure en dressant un schéma du fonctionnement possible du système supra-optico-hypophysaire, tel que les résultats recueillis au cours de ce travail, confrontés aux données de nombre d'auteurs, nous permettent de l'envisager (figure 15).

- Les cellules neuro-sécrétrices du N.S.O. seraient les organes effecteurs, ou "Final common way", de la part endocrinienne de la régulation hydrique.

- Les cellules de type II, disposées autour du N.S.O., constitueraient les osmorécepteurs, mis en jeu spécifiquement par stimulation osmotique.

- L'activité des neurones neuro-sécréteurs serait modulée par des collatérales récurrentes agissant sur le périkaryon, ou les périkaryons voisins, soit directement, soit par l'intermédiaire d'inter-neurones, grâce à un ou plusieurs médiateurs.

Enfin, ce système recevrait des afférences périphériques mises en jeu par le comportement de boisson,

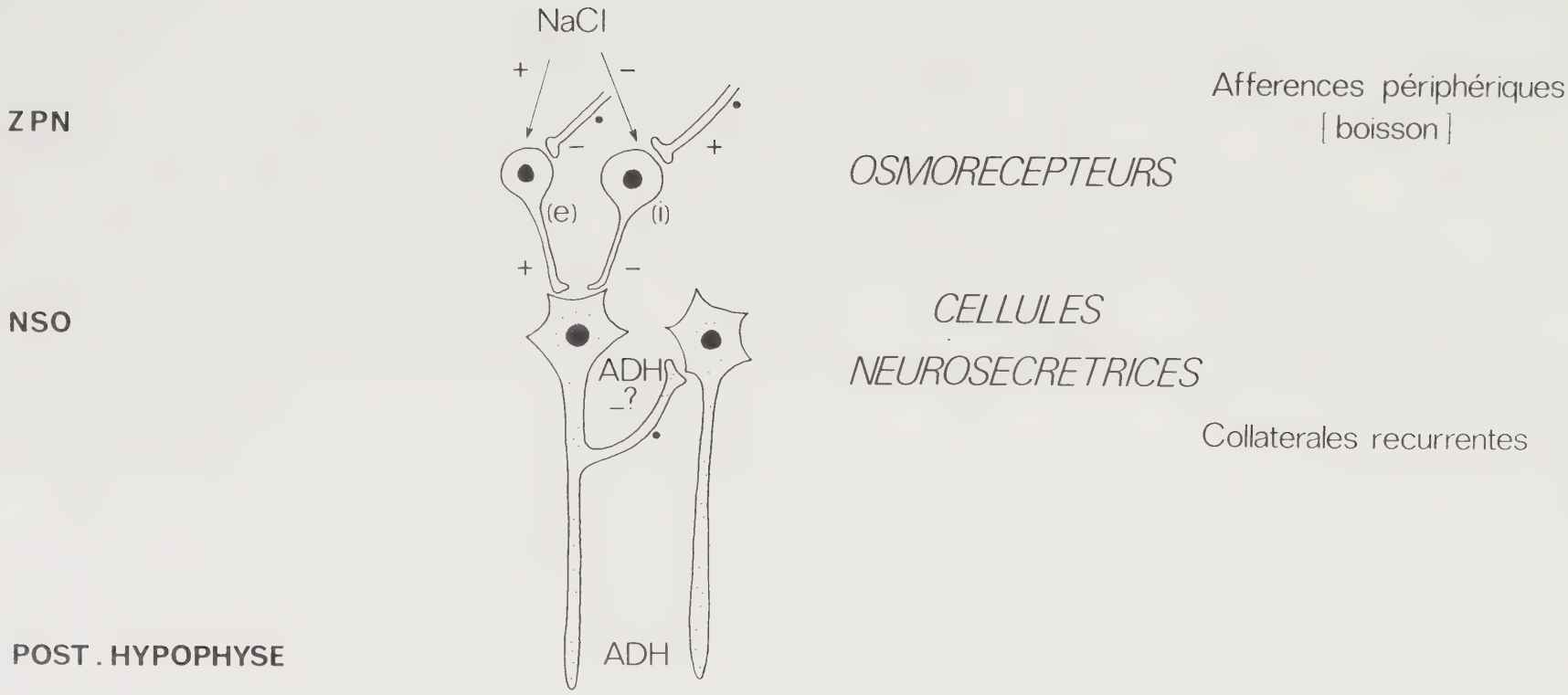


Figure 15.

Schéma de l'organisation du système supra-optico-hypophysaire.

et aboutissant aux osmorécepteurs. Ces afférences en inhibant les osmorécepteurs excitateurs, et en excitant les osmorécepteurs inhibiteurs, inhiberaient ainsi les cellules neuro-sécrétrices. A ce niveau, se ferait donc une articulation entre les deux grands systèmes, comportemental et endocrinien, de la régulation hydrique.

CONCLUSIONS

Nous avons étudié, au cours de cette thèse, l'activité des neurones hypothalamiques antéro-latéraux, chez le Singe non anesthésié (Macaca Mulatta), en réponse à un stimulus osmotique.

Conformément aux résultats obtenus par HAYWARD et VINCENT, 1970, deux groupes de neurones se distinguent :

- des neurones osmosensibles non spécifiques, diffus dans tout l'hypothalamus antéro-latéral,
- des neurones osmosensibles spécifiques, ne réagissant qu'au stimulus osmotique, soit par une activité biphasique, soit par une activité monophasique, et localisés dans la région du Noyau Supra-Optique (N.S.O.).

Grâce à la mise au point d'une méthode de stimulation antidromique post-hypophysaire, applicable à l'animal chronique, les cellules biphasiques ont pu être identifiées comme neurosécrétrices. Par contre, il n'a pas été possible d'obtenir de potentiel antidromique stable dans les cellules monophasiques, qui appartiennent donc à une population cytologique différente.

De ce travail, confronté aux travaux de nombre d'auteurs, il ressort que les neurones biphasiques sont des cellules neurosécrétrices et constituent ainsi "l'organe effecteur" du contrôle endocrinien de la régulation

hydrique. Quant aux cellules monophasiques, leurs caractères topographiques et électrophysiologiques en font les candidats de choix pour être les osmorécepteurs de Verney.

D'autre part, sur trois des animaux, a été analysée la réponse des neurones spécifiques au comportement de boisson. La réponse obtenue, inverse de celle succédant au stimulus osmotique, donne un argument de plus pour l'existence de mécanismes anticipatoires dans le contrôle de la soif. Comme cet effet se produit également sur les cellules monophasiques, il est probable que les afférences périphériques aboutissent aux osmorécepteurs.

Enfin, la technique de stimulation antidromique a permis d'étudier le phénomène d'inhibition récurrente dans les cellules neurosécrétrices, dont les caractères semblent identiques à ceux de l'inhibition secondaire observée dans les cellules biphasiques après stimulation osmotique.

Compte tenu des résultats obtenus, il est proposé à titre hypothétique un schéma d'organisation fonctionnelle, sur ces divers points, du système supra-optico-hypophysaire.

SERMENT

En présence des maîtres de cette Ecôle, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la mèdecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les moeurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la mèdecine ou recourir à mes soins je les instruirai et les soignerai sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfeindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je me parjure, puissè-je avoir un sort contraire.

Vu,

Le Président :

H. BRICAUD.

Bon à imprimer,

Le Président de Thèse :

J.M.A. FAURE.

Vu et permis d'imprimer,

Bordeaux, le 1er décembre 1972

Le Chancelier de l'Université :

Mr PAULIAN.

B I B L I O G R A P H I E

- ANDERSSON, B., ERIKSSON, L. - Conjoint action of sodium and angiotensin on brain mechanisms controlling water and salt balances. Acta Physiol. Scand., 1971, 81, 18-29.

- ARNAULD, E., VINCENT, J.D., FAURE, J.M.A. - Stimulation antidromique et enregistrements unitaires des neurones du noyau supra-optique chez le Macaque éveillé. Com. Réunion d'AMSTERDAM, Ass. Physiol., 12-13 mai 1972, sous presse in J. Physiol. (Paris), 1972, 65.

- ARNAULD, E., VINCENT, J.D., et NICOLESCU-CATARGI, Al.- Contrôle autogène de la sécrétion de l'hormone antidiurétique, 1ère Réunion de Neuroendocrinologie Expérimentale, LILLE, 4-5 septembre, sous presse in LILLE Médical, 1972.

- BARD, P., and MACHT, M.B. - The behavior of chronically decerebrate cats, In Ciba Foundation Symposium : Neurological Basis of Behavior, Little, Brown, and C°, BOSTON, 1958.

- BARKER, J.L., CRAYTON, J.W., and NICOLL, R.A. - Supraoptic neurosecretory cells : autonomic modulation, Science, 1971 a, 171, 206-207.

- BARKER, J.L., CRAYTON, J.W., and NICOLL, R.A. - Supraoptic neurosecretory cells : adrenergic and cholinergic sensitivity. Science, 1971 b, 171, 208-210.

- BARKER, J.L., CRAYTON, J.W., and NICOLL, R.A. - Antidromic and orthodromic responses of paraventricular and supraoptic neurosecretory cells. Brain Research, 1971 c, 33, 353-366.

- BARKER, J.L., CRAYTON, J.W., and NICOLL, R.A. - Noradrenaline and acetylcholine responses of supraoptic neurosecretory cells. J. Physiol. (LONDON), 1971 d, 218, 19-32.

- BRIDGES, T.E., and THORN, N.A. - The effect of autonomic blocking agents on vasopressin release, in vivo, induced by osmoreceptor stimulation. J. Endocr., 1970, 48, 265-276.

- BROOKS, C., Mc C., ISHIKAWA, T., KOIZUMI, K., and LU,H.H. Activity of neurones in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and its control. J. Physiol. (LONDON), 1966, 182, 217-231.

- BROOKS, C., Mc C., USHIYAMA, J., and LANGE, G. - Reactions of neurons in or near the supraoptic nucleus. Amer J. Physiol., 1962, 202, 487-490.

- CAJAL, S.R. - Histologie du système nerveux de l'Homme et des vertébrés. Vol. 2, MALOINE édit. PARIS, 1911.

- CHRIST, J.F. - Nerve supply, blood supply and cytology of the neurohypophysis. In The pituitary gland. Vol. 3, Harris, G.W., and Donovan, B.T., ed., LONDON, Butterworth, 1966.

- CLEMENTE, C.D., SUTIN, J., and SILVERSTONE, J.T. - Changes in electrical activity of the medulla on the intravenous injection of hypertonic solutions. Amer. J. Physiol., 1957, 188, 193-198.

- CROSS, B.A., and GREEN, J.D. - Activity of single neurones in the hypothalamus : effect of osmotic and other stimuli. J. Physiol. (LONDON, 1959, 148, 554-569.

- DREIFUSS, J.J., KALNINS, I., KELLY, J.S., and RUF, K.B.- Action potentials and release of neurohypophysial hormones in vitro. J. Physiol (LONDON), 1971, 215, 805-817.

- DREIFUSS, J.J., and KELLY, J.S. - Recurrent inhibition of antidromically identified rat supraoptic neurones. J. Physiol. (LONDON), 1972 a, 220, 87-103.

- DREIFUSS, J.J., and KELLY, J.S. - The activity of identified supraoptic neurones and their responses to acetylcholine applied by iontophoresis. J. Physiol. (LONDON), 1972 b, 220, 105-118.

- DYBALL, R.E.J. - Oxytocin and A.D.H. secretion in relation to electrical activity in antidromically identified supraoptic and paraventricular units. J. Physiol. (LONDON), 1971, 214, 245-256.

- DYBALL, R.E.J., and KOIZUMI, K. - Electrical activity in the supraoptic and paraventricular nuclei associated with neurohypophysial hormone release. J. Physiol. (LONDON), 1969 , 201, 711-722.

- ECCLES, J.C., FATT, P., and KOKETSU; K. - Cholinergic and inhibitory synapses in a pathway from motor-axon collaterals to motoneurones. J. Physiol. (LONDON),1954, 126, 524-562.

- EULER, C., von. - A preliminary note on slow hypothalamic osmo-potentials. Acta Physiol. Scand., 1953, 29 , 133-136.

- FINDLAY, A. L.R., and HAYWARD, J.N. - Spontaneous activity of single neurones in the hypothalamus of rabbits during sleep and waking. J. Physiol. (LONDON), 1969 , 201, 237-258.

- FUORTES, M.G.F., FRANCK, K., and BECKER, M.D. - Steps in the production of motoneuron spikes. J. Gen. Physiol., 1957, 40, 735-752.

- GREEN, J.D., and MORIN, F. - Hypothalamic electrical activity and hypothalamocortical relationships. Amer. J. Physiol., 1953, 172, 175-186.

- GREEN, J.D., MANCIA, M. and Von BAUMGARTEN, R. - Recurrent inhibition in the olfactory bulb. I : effects of antidromic stimulation of the lateral olfactory tract. J. Neurophysiol., 1962, 25, 467-488.

- HABERICH, F.J. - Rôle des récepteurs osmotiques du système porte dans la régulation de l'équilibre hydrique. Triangle, 1972, 12, 143-153.

- HARRIS, G.W. - Neural control of the pituitary gland. Edward Arnold, LONDON, 1955, 190-193.

- HAYWARD, J.N. - Hypothalamic single cell activity during the thermoregulatory adjustments of sleep and waking in the monkey. Anat. Rec., 1969, 163, 197.

- HAYWARD, J.N., and BAKER, M.A. - A comparative study of the role of arterial blood in the regulation of brain temperature in five animals. Brain Research, 1969, 16, 417-440.

- HAYWARD, J.N., and VINCENT, J.D. - Osmosensitive single neurones in the hypothalamus of unanesthetized monkeys. H. Physiol. (LONDON), 1970, 210, 947-972.

- HOLLAND, R.C., SUNDSTEN, J.W., and SAWYER, C.H. - Effects of intra carotid injections of hypertonic solutions on arterial pressure in the rabbit. Circulation Res., 1959, 7, 712-720.

- ISHIKAWA, T., KOIZUMI, K., and BROOKS, C. Mc C. - Activity of supraoptic nucleus neurones of the hypothalamus. Neurology Minneap., 1966, 16, 101-106.

- JEWELL, P.A., and VERNEY, E.B. - An experimental attempt to determine the site of neurohypophysial osmoreceptors in the dog. Phil. Trans. R. Soc., B, 240, 197-324.

- JOYNT, R.J. - Functionnal significance of osmosensitive units in the anterior hypothalamus. Neurology, 1964, 14, 584-590.

- JOYNT, R.J. - Verney's concept of the osmoreceptor. A review and further experimental observations. Arch. Neurol., 1966, 14, 331-344.

- KANDEL, E.R. - Electrical properties of hypothalamic neuroendocrine cells. J. Gen. Physiol., 1964, 47,691-719.

- KELLY, J.S., and DREIFUSS, J.J. - Antidromic inhibition of identified rat supraoptic neurones. Brain Research, 1970, 22, 406-409.

- KOIZUMI, K., ISHIKAWA, T., and BROOKS, C. Mc C. - Control activity of neurons in the supraoptic nucleus. J. Neurophysiol., 1964, 27, 878-892.

- KOIZUMI, K., and YAMASHITA, H. - Studies of antidromically neurosecretory cells of the hypothalamus by intracellular and extracellular recordings. J. Physiol. (LONDON), 1972, 221, 683-705.

- LILJESTRAND, G., and ZOTTERMAN, Y. - The water taste in mamals. Acta Physiol. Scand., 1954, 32, 291-303.

- MONTGOMERY, A.V., and HOLMES, J.H. - Gastric inhibition of drinking response. Amer. J. Physiol., 1955, 182, 227-231.

- NAKAYAMANA, T. - Hypothalamic electrical activities produced by factors causing discharge of pituitary hormones. Jap. J. Physiol., 1955, 5, 311-316.

- NEGORO, H., and HOLLAND, R.C. - Inhibition of unit activity in the hypothalamic paraventricular nucleus following antidromic activation. Brain Research, 1972, 42, 385-402.

- NICOLAIDIS, S. - Early systemic responses to orogastric stimulation of food and water balance : functional and electrophysiological data. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1969, 157, 1176-1203.

- NICOLL, R.A., and BARKER, J.L. - The pharmacology of recurrent inhibition in the supraoptic neurosecretory system. Brain Research, 1971, 35, 501-511.

- NOVIN, D., SUNDSTEN, J.W., and CROSS, B.A. - Some properties of antidromically activated units in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. Exp. Neurol., 1970, 26, 330-341.

- OLSSON, K. - Studies on central regulation of secretion of antiuretic hormone in the goat. Acta Physiol., Scand., 1969, 77, 465-474.

- OLSSON, K. - Effects on water diuresis of infusions of transmitter substancies in to the third ventricle. Acta Physiol. Scand., 1970, 79, 133-135.

- PAINTAL, A.S. - A study of gastric stretch receptors. Their role in the peripheral mechanisms of satiation of hunger and thirst. J. Physiol. (LONDON), 1954, 126, 255-270.

- PHILIPS, C.G. - Actions of antidromic pyramidal volleys on single Betz cells in the cat. Quart. J. Exp. Physiol., 1959, 44, 125.

- PICKFORD, M. - The inhibitory effect of acetylcholine on water diuresis in the dog, and its pituitary transmission. J. Physiol. (LONDON), 1939, 95, 226-238.

- SAWYER, C.H., and GERNANDT, B.E. - Effect of intra carotid and intraventricular injections of hypertonic solutions on electrical activity of the rabbit brain. Amer. J. Physiol., 1956, 185, 209-216.

- SCHARRER, E. - Untersuchungen über das Zwischenhirn der Fische. Z. VERGL. Physiol., 1928, 7, 1.

- SNIDER, R.S., and LEE, J.C. - A stereotaxic atlas of the monkey brain. Univ. of Chicago Press, Chicago, 1961.

- SPENCER, W.A., and KANDEL, E.R. - Hippocampal neuron responses to selective activation of recurrent collaterals of hippocampofugal axons. Exp. Neurol., 1961, 4, 149.

- SUDA, I., KOIZUMI, K., and BROOKS, C. Mc. C. - Study of unitary activity in the supraoptic nucleus of the hypothalamus. Jap. J. Physiol., 1963, 13, 374-385.

- SUNDSTEN, J.W., and SAWYER, C.H. - Electroencephalographic evidence of osmosensitive elements in the olfactory bulb of dog brain. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1959, 101, 524-527.

- SUNDSTEN, J.W., and SAWYER, C.H. - Osmotic activation of neurohypophysial hormone release in rabbits with hypothalamic islands. Expl. Neurol., 1961, 4, 548-561.

- TOWBIN , E.J.- Gastric distention as a factor in the satiation of thirst in oesophagostomized dogs. Amer. J. Physiol., 1949, 159, 75-86.

- THORN, N.A. - Osmoreceptors and the supraopticohypophysial system. In Proc. Int. Union Physiol. Sci., XXV Int. Congr., Vol. 1, I.U.P.S., MUNICH, 1971, p 110.

- VERNEY, E.B. - The antidiuretic hormone and the factors which determine its release. Phil. Trans. B., 1947, 135, 25- 106.

- VINCENT, J.D., BENOIT, O,, SCHERRER, J. et FAURE, J.M.A.- Activités élémentaires recueillies dans l'Hypothalamus au cours de la veille et du sommeil chez le Lapin chronique. J. Physiol. (PARIS), 1967, 59, 527.

- VINCENT, J.D., et ARNAULD, E. - Contrôle hypothalamique de la balance hydrique chez le Singe. Journées Scientifiques de BORDEAUX II, 6-7 novembre 1972, à paraître.

- VINCENT, J.D., ARNAULD, E. and BIOULAC, B. - Activity of osmosensitive single cells in the hypothalamus of the behaving monkey during drinking. Brain Research, 1972, 44, 371-384.

- VINCENT, J.D., ARNAULD, E., and NICOLESCU-CATARGI, Al.- Osmoreceptors and neurosecretory cells in the supraoptic complex of the unanesthetized monkey. Brain Research, 1972, 45, 278-281.

- VINCENT, J.D., and HAYWARD, J.N. - Activity of single cells in the osmoreceptor supraoptic nuclear complex in the hypothalamus of the waking monkey. Brain Research, 1970, 23, 105-108.

- YAGI, K., AZUMA, T., and MATSUDA, K. - Neurosecretory cells : capable of conducting impulse in rats. Science, N.Y., 1966, 154, 778-779.

- YAMASHITA, H., and KOIZUMI, K. - Excitation and inhibition of mammalian neurosecretory neurons. Physiologist., 1970, 13, 351.

- YAMASHITA, H., and KOIZUMI, K. - Study of neurosecretory neurons in supraoptic nuclei of dogs by intracellular and extracellular recordings. Proc. Int. Union Physiol. Sci., 1971, 9, 612.

- YAMASHITA, H., KOIZUMI, K., and BROOKS, C. Mc C. - Electrophysiological studies of neurosecretory cells in the cat hypothalamus. Brain Research, 1970, 20 , 462-466.